

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :

A61B 5/00

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 94/10901

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:

26. Mai 1994 (26.05.94)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE93/01058

(22) Internationales Anmeldedatum:
4. November 1993 (04.11.93)

(30) Prioritätsdaten:

1363/92	9. November 1992 (09.11.92)	DK
0446/93	20. April 1993 (20.04.93)	DK
0457/93	21. April 1993 (21.04.93)	DK
P 43 14 835.2	5. Mai 1993 (05.05.93)	DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE/DE]; Sandhofer Strasse 116, D-68298 Mannheim (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SIMONSEN, Jan, Henning [DK/DK]; Treskel 3, DK-7600 Struer (DK). BOEKER, Dirk [DE/DE]; Kirchstrasse 14, D-69115 Heidelberg (DE).

(74) Anwalt: PFEIFER, Hans-Peter; Nowackanlage 15, D-76137 Karlsruhe (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KP, KR, KZ, LK, LU, LV, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SK, UA, US, UZ, VN, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

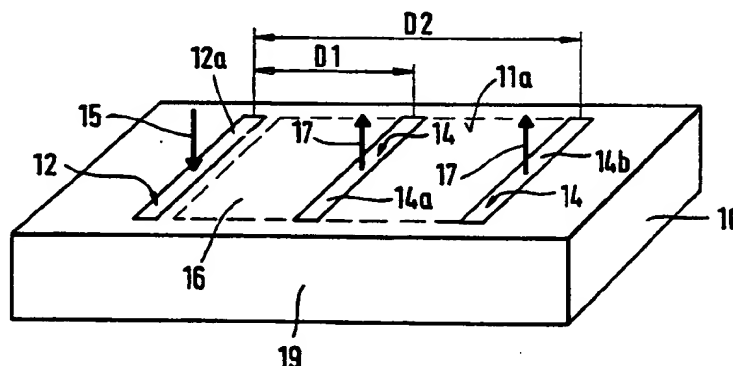
Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: PROCESS AND DEVICE FOR GLUCOSE DETERMINATION IN A BIOLOGICAL MATRIX

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR ANALYSE VON GLUCOSE IN EINER BIOLOGISCHEN MATRIX



(57) Abstract

A process for determining the glucose concentration in a biological matrix (10) includes at least two detection measurements during which the biological matrix (10) is irradiated with light which acts as a primary light, light propagates in the biological matrix (10) along a light propagation path and the light intensity of secondary light leaving the biological matrix is measured. The process also includes an evaluation step, during which the glucose concentration is derived from the intensity measurement values detected during the measurement steps by means of an evaluation algorithm and a calibrating operation. In order to obtain good test accuracy with simple means, at least one detection measurement is a local resolution measurement of light scattered many times, during which a defined irradiation site (12) of the biological matrix (10) is irradiated with primary light (15), the intensity of the secondary light (17) leaving the biological matrix (10) at a defined detection site (14) is measured and the detection site (14) is positioned with respect to the irradiation site in such a way that the intensity of the light scattered many times at scattering centres in the biological matrix (10) and detected at the detection site is characteristic of the glucose concentration.

(57) Zusammenfassung Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von Glucose in einer biologischen Matrix (10), umfassend mindestens zwei Detektionsmessungen, bei denen jeweils Licht als Primärlicht in die biologische Matrix (10) eingestrahlt wird, das Licht in der biologischen Matrix (10) entlang einem Lichtweg propagiert und eine als Sekundärlicht austretende Lichtintensität gemessen wird, und einen Auswerteschritt, bei dem aus den Intensitätsmeßwerten der Detektionsmessungen mittels eines Auswertalgorithmus und einer Kalibration die Glucosekonzentration abgeleitet wird. Eine gute Analysegenauigkeit wird mit einfachen Mitteln dadurch erreicht, daß mindestens eine Detektionsmessung eine orts aufgelöste Messung von vielfach gestreutem Licht ist, bei der das Primärlicht (15) an einem definierten Einstrahlungsort (12) in die biologische Matrix (10) eingestrahlt wird, die Intensität des an einem definierten Detektionsort (14) aus der biologischen Matrix (10) austretenden Sekundärlichts gemessen wird und der Detektionsort (14) relativ zu dem Einstrahlungsort so angeordnet ist, daß an Streuzentren der biologischen Matrix (10) vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MR	Mauritanien
AU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GA	Gabon	NE	Niger
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	HU	Ungarn	PL	Polen
BR	Brasilien	IE	Irland	PT	Portugal
BY	Belarus	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	LJ	Liechtenstein	SK	Slowakische Republik
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CN	China	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LV	Lettland	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	MC	Monaco	UA	Ukraine
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DK	Dänemark	ML	Mali	UZ	Usbekistan
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Verfahren und Vorrichtung zur Analyse von
Glucose in einer biologischen Matrix

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Analyse von Glucose in einer biologischen Matrix.

Der Begriff "biologische Matrix" bezeichnet eine Körperflüssigkeit oder ein Gewebe eines lebenden Organismus. Biologische Matrices, auf die sich die Erfindung bezieht, sind optisch heterogen, d.h. sie enthalten eine Vielzahl von Streuzentren, an denen eingestrahltes Licht gestreut wird. Im Falle von biologischem Gewebe, insbesondere Hautgewebe, werden die Streuzentren von den Zellwänden und anderen in dem Gewebe enthaltenen Bestandteilen gebildet.

Körperflüssigkeiten, insbesondere Blut, sind ebenfalls optisch heterogene biologische Matrices, weil sie Partikel enthalten, an denen Licht vielfach gestreut wird. Auch Milch und andere in der Lebensmittelchemie zu untersuchende Flüssigkeiten enthalten vielfach eine hohe Kon-

zentration von Streuzentren, beispielsweise in Form von emulgierten Fetttröpfchen.

Zur qualitativen und quantitativen analytischen Bestimmung von Komponenten solcher biologischen Matrices werden im allgemeinen Reagenzien bzw. Reagenziensysteme eingesetzt, deren Reaktion mit der jeweiligen Komponente zu einer physikalisch nachweisbaren Änderung, beispielsweise einer Änderung der Farbe der Reaktionslösung führt, die als Meßgröße gemessen werden kann. Durch Kalibration mit Standardproben bekannter Konzentration wird eine Korrelation zwischen den bei unterschiedlichen Konzentrationen gemessenen Werten der Meßgröße und der jeweiligen Konzentration bestimmt.

Diese Verfahren ermöglichen zwar Analysen mit hoher Genauigkeit und Empfindlichkeit, machen es jedoch erforderlich, eine flüssige Probe, insbesondere eine Blutprobe zur Analyse dem Körper zu entnehmen ("Invasive Analyse"). Diese Probenentnahme ist unangenehm und schmerzhaft und verursacht ein gewisses Infektionsrisiko.

Dies gilt vor allem, wenn eine Krankheit sehr häufige Analysen erforderlich macht. Das wohl wichtigste Beispiel ist der Diabetes mellitus. Um schwere Folgeerkrankungen und kritische Zustände des Patienten zu vermeiden, ist es bei dieser Krankheit erforderlich, den Glucosegehalt des Blutes sehr häufig oder sogar kontinuierlich zu bestimmen.

Es sind deshalb bereits eine Vielzahl von Verfahren und Vorrichtungen vorgeschlagen worden, um Glucose in Blut, Gewebe oder anderen biologischen Matrices in vivo und nicht-invasiv zu bestimmen.

Ein Überblick über physikochemische (reagenzienfreie) Bestimmungen von Glucose in vivo wird gegeben in:

J.D. Kruse-Jarres "Physicochemical Determinations of Glucose in vivo", J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 26 (1988), 201-208. Als nicht-invasive Verfahren werden dabei unter anderem die Kernresonanz (NMR, nuclear magnetic resonance), Elektronenspinresonanz (ESR, electron spin resonance) sowie die Infrarotspektroskopie genannt. Keines dieser Verfahren hat jedoch bis jetzt praktische Bedeutung erlangen können. Teilweise sind extrem große und aufwendige Apparaturen erforderlich, die für die Routineanalytik oder gar die Selbstkontrolle des Patienten (home monitoring) völlig ungeeignet sind.

Die Erfindung bezieht sich auf eine Teilgruppe von nicht-invasiven Analyseverfahren, bei denen Licht durch eine die biologische Matrix begrenzende Grenzfläche als Primärlicht in die biologische Matrix eingestrahlt und die Intensität des nach Wechselwirkung mit der biologischen Matrix aus dieser als Sekundärlicht austretenden Lichts gemessen wird. Eine solche Messung wird hier als "Detektionsmessung" bezeichnet. Zur Bestimmung einer Glucosekonzentration werden bei den bekannten Verfahren mehrere Detektionsmessungen bei unterschiedlichen Wellenlängen durchgeführt. Aus der bei den Detektionsmessungen ermittelten spektralen Abhängigkeit der Intensität des Sekundärlichts wird ein Meßresultat abgeleitet, das (ohne Verwendung von Reagenzien) ein Maß für die Konzentration des Analyten in der biologischen Matrix ist. Die Wellenlängen des Lichts, die für solche Verfahren diskutiert werden, liegen allgemein zwischen etwa 300 nm und mehreren tausend nm, also im Spektralbereich zwischen dem nahen UV- und infrarotem Licht. Der Begriff "Licht" darf nicht als Einschränkung auf den sichtbaren Spektralbereich des Lichtes verstanden werden.

Nahezu alle bekannten Verfahren dieser Art basieren auf den Prinzipien der Spektroskopie. Grundlage ist dabei die Wechselwirkung des eingestrahlten Primärlichtes in bestimmten spektralen Bereichen mit Vibrations- und Rotationszuständen der zu analysierenden Moleküle. Die Vibrations- und Rotations-Grundzustände der Glucose befindet sich im IR-Bereich bei Wellenlängen von mehr als 2500 nm. Diese können wegen der starken Absorption des in biologischen Matrices stets in hoher Konzentration gegenwärtigen Wassers für die nicht-invasive Analyse von Glucose nicht verwendet werden. Im Bereich des nahen Infrarot (NIR) ist die Absorption des Wassers geringer (sogenanntes "Wasser-Transmissionsfenster"). Die spektrale Analyse von Glucose in diesem Bereich basiert auf der Absorption durch Overtöne (overtones) und Kombinationsschwingungen der Vibrations- und Rotationsgrundzustände des Glucosemoleküls (vgl. vorstehend zitierter Artikel von Kruse-Jarres und EP-A-0 426 358).

Die praktische Realisierung eines nicht-invasiven Glucose-Sensors auf Basis dieser Prinzipien verursacht außerordentlich große Schwierigkeiten, die vor allem daraus resultieren, daß das Nutzsignal (die Änderung des Absorptions-Spektrums in Abhängigkeit von einer Änderung der Glucosekonzentration) sehr gering ist und diesem kleinen Nutzsignal ein großer Hintergrund von Störsignalen gegenübersteht, die insbesondere von der spektralen Absorption von Wasser und anderen stark absorbierenden Komponenten (unter anderem dem roten Blutfarbstoff Hämoglobin) resultieren. Zur Lösung dieses Problems wurden zahlreiche unterschiedliche Versuche unternommen:

- Es werden Differenz-Messungen bei unterschiedlichen Wellenlängen durchgeführt, wobei eine erste Wellenlänge so gewählt ist, daß die Glucose dort möglichst

stark absorbiert, während eine zweite Wellenlänge als Referenzwellenlänge so gewählt ist, daß die Absorption bei unterschiedlichen Glucosekonzentrationen möglichst konstant ist (EP-A-0 160 768).

- In dem US-Patent 5,028,787 werden mit Hilfe von Computer-Untersuchungen Wellenlängenpaare ausgewählt, die sich in besonderem Maße für Absorptionsmessungen von Glucose eignen sollen. Als besonders gut geeignet wird das Wellenlängenpaar 945 nm und 1015 nm angesehen.
- In der WO 93/00856 werden zwei Wellenlängen so ausgewählt, daß der Extinktions-Koeffizient möglichst gleich ist. Die Intensität von zwei Strahlen mit diesen beiden Wellenlängen wird so abgeglichen, daß das detektierte Signal gleich groß ist. Änderungen der Glucosekonzentration sollen sich dabei als Änderungen des Differenzsignals zwischen beiden Wellenlängen nachweisen lassen.

Weitere Verfahren und Vorrichtungen zur nichtinvasiven Analyse von Glucose werden beschrieben in den US-Patenten 5,086,229, 5,178,142, 5,179,951, 4,883,953, 4,882,492 und den PCT-Anmeldungen WO 92/17765 und WO 90/07905.

Trotz dieser Bemühungen ist es bisher nicht gelungen, einen praktisch funktionsfähigen nicht-invasiven Glucose-Sensor zur Verfügung zu stellen. Realistischer ist die Möglichkeit, mit einem auf den Prinzipien der Spektralanalyse basierenden In-vivo-Sensor die Konzentration von Substanzen zu bestimmen, die um mehrere Größenordnungen stärker als Glucose absorbieren. Wichtige Beispiele sind das stark absorbierende Hämoglobin (Hb) bzw. dessen oxidierte Form HbO_2 . Da diese Parameter Auskunft über den Oxygenierungszustand des Blutes geben, werden solche Sensoren auch als Oximeter bezeichnet. Aus der Literatur

sind zahlreiche unterschiedliche Konstruktionen und Verfahren für nicht-invasive Oximeter bekannt. Verwiesen sei beispielsweise auf WO 89/01758, US 4,867,557 (entsprechend EP-A-0 286 142) , EP-A-0 353 619, EP-A-0 104 772, WO 91/17697, WO 93/11701 (publiziert am 24.6.1993) und die US-Patente 5,057,695, 4,223,680, 4,295,470, 4,824,242.

In der europäischen Patentschrift 0 074 428 ist ein Verfahren und eine Vorrichtung zur quantitativen Bestimmung von Glucose durch Laser-Lichtstreuung beschrieben. Dabei wird davon ausgegangen, daß die Glucosemoleküle einen durch die Lösung transmittierten Lichtstrahl streuen und daß sich daraus die Glucosekonzentration ableiten läßt. Entsprechend dieser Theorie wird die Messung darauf ausgerichtet, daß die Information über die Glucosekonzentration aus der Raumwinkelverteilung des aus einer Untersuchungsküvette oder einem untersuchten Körperteil austretenden transmittierten Lichtes erhältlich ist. Insbesondere wird die Intensität des transmittierten Lichtes in einem Winkelbereich, in dem die Änderung in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration möglichst groß ist, gemessen und in Beziehung zu der an dem Zentralstrahl, welcher die Probe in gerader Richtung durchdringt, gemessenen Intensität gesetzt. Zur in vivo-Analyse wird ausschließlich eine Transmissionsmessung mit Laserlicht am Ohr läppchen empfohlen.

Mit ähnlichen wissenschaftlichen Überlegungen befaßt sich auch die Publikation von I.S. Chira et al.:

"Light Scattering by Blood Components after Supplying Glucose", Biomed. Technik 35 (1990), 102-106. Darin wird experimentell die Möglichkeit untersucht, die Glucosekonzentration in Flüssigkeiten mittels Lichtstreuung zu bestimmen. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß dies

weder mit statischen Lichtstreuexperimenten noch mit der Photonen-Korrelations-Spektroskopie (PCS) möglich ist.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren für die analytische Bestimmung von Glucose in einer biologischen Matrix zur Verfügung zu stellen, welches mit einfachen Mitteln, reagenzienfrei und nicht-invasiv arbeitet und eine gute Analysegenauigkeit, zum Beispiel für die Beobachtung der Änderung der Analytkonzentration (Verlaufskontrolle) über einen ausreichenden Zeitraum, ermöglicht.

Die Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von Glucose in einer biologischen Matrix, umfassend mindestens zwei Detektionsmessungen, bei denen jeweils Licht durch eine die biologische Matrix begrenzende Grenzfläche als Primärlicht in die biologische Matrix eingestrahlt wird, das Licht in der biologischen Matrix entlang einem Lichtweg propagiert und eine aus der biologischen Matrix durch eine diese begrenzende Grenzfläche als Sekundärlicht austretende Lichtintensität gemessen wird, und einen Auswerteschritt, bei dem aus den Intensitätsmeßwerten der Detektionsmessungen mittels eines Auswertealgorithmus und einer Kalibration die Glucosekonzentration abgeleitet wird, bei welchem mindestens eine Detektionsmessung eine orts aufgelöste Messung von vielfach gestreutem Licht ist, bei der das Primärlicht an einem definierten Einstrahlungsort in die biologische Matrix eingestrahlt wird, die Intensität des an einem definierten Detektionsort aus der biologischen Matrix austretenden Sekundärlichts gemessen wird und der Detektionsort relativ zu dem Einstrahlungsort so angeordnet ist, daß an Streuzentren der biologischen Matrix vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin eine Vorrichtung zur Bestimmung der Konzentration von Glucose in einer biologischen Matrix, insbesondere zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens, mit einem zum Anlegen an eine Grenzfläche der biologischen Matrix vorgesehenen Lichttransmissionsbereich, Einstrahlungsmitteln zum Einstrahlen von Licht in die biologische Matrix durch eine diese begrenzende Grenzfläche, Detektionsmitteln zum Messen der Intensität von aus der biologischen Matrix durch eine diese begrenzende Grenzfläche austretendem Licht und Auswertemitteln zum Umwandeln der gemessenen Intensität in ein der Glucosekonzentration entsprechendes Signal, bei welchem die Einstrahlungsmittel zum gezielten Beleuchten eines definierten Einstrahlungsortes ausgebildet sind und die Detektionsmittel zum gezielten Messen des an einem definierten Detektionsort austretenden Sekundärlichts ausgebildet sind, wobei der Detektionsort relativ zu dem Einstrahlungsort so angeordnet ist, daß an Streuzentren der biologischen Matrix vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.

Für die Erfindung ist kennzeichnend, daß eine für die Glucosekonzentration charakteristische Meßgröße ohne Messung mehrerer Wellenlängen dadurch bestimmt werden kann, daß zwei Detektionsmessungen (bei vorzugsweise gleicher Meßwellenlänge, aber mit unterschiedlichen Lichtwegen) stattfinden, wobei wenigstens eine der Detektionsmessungen eine orts aufgelöste Messung von vielfach gestreutem Licht ist. Im Gegensatz zu vorbekannten spektroskopischen Verfahren (insbesondere NIR-Spektroskopie) geht es dabei nicht darum, die optische Absorption als Maß für die Glucose zu bestimmen. Die Wellenlänge wird vorzugsweise sogar in einem Spektralbereich gewählt, in

dem die Absorption der Glucose verhältnismäßig gering ist.

Figur 1 zeigt ein Absorptionsspektrum von Glucose in Wasser. Aufgetragen ist dabei der dekadische Logarithmus der Relation aus gemessener Intensität und eingestrahlter Intensität ($\lg I/I_0$) in Transmission für eine Küvettendicke von 1 cm und vier Glucosekonzentrationen, nämlich 0,1,5 und 10%. Man erkennt, daß sich die Spektren für diese vier Konzentrationen nur in einem kleinen Wellenlängenbereich bei etwa 980 nm geringfügig unterscheiden. Der maximale Signalunterschied zwischen dem Meßwert mit reinem Wasser und der 10%-igen Glucoselösung bei dieser Wellenlänge ist kleiner als 2 %. Bei anderen Wellenlängen ist der Unterschied noch wesentlich geringer. Dabei ist die in dem Experiment verwendete Variation der Glucosekonzentration sehr viel größer als die reale physiologische Glucosekonzentration. Bezogen auf eine realistische Glucoseänderung im physiologischen Bereich von 100 mg/dl entspricht die Änderung bei 980 nm weniger als 0,02 %. Die Änderung dI/dC des Meßsignals I in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration C wird nachfolgend als "relativer Signalhub (relativ signal change)" bezeichnet und quantitativ in % je 100 mg/dl Änderung der Glucosekonzentration ausgedrückt.

Figur 2 zeigt ein ähnliches Spektrum im anschließenden Wellenlängenbereich zwischen etwa 1100 nm und 2500 nm. Es handelt sich dabei um ein Differenzspektrum für Glucosekonzentrationen zwischen 0 und 600 mg/dl gegen reines Wasser. Negative Werte bedeuten dabei eine im Vergleich zum reinen Wasser verringerte Absorption. Dabei beträgt die maximale nutzbare Änderung der Signalintensität insgesamt weniger als 0,3 %, also im Mittel weniger als 0,05 % je 100 mg/dl Änderung der Glucosekonzentration.

Die Figuren 1 und 2 zeigen insgesamt, daß über weite Spektralbereiche die Abhängigkeit der Absorption von der Glucosekonzentration so gering ist, daß sie zur Messung in einer biologischen Matrix praktisch nicht genutzt werden kann. Als Spektralbereiche mit einer "geringen" Abhängigkeit der Absorption von der Glucosekonzentration werden die Wellenlängenbereiche angesehen, in denen der relative Signalhub dI/dC bei einer Transmissionsmessung an einer klaren Glucoselösung weniger als 0,01 % je 100 mg/dl Änderung der Glucosekonzentration beträgt.

Aufgrund der in den Figuren 1 und 2 dargestellten Meßergebnisse könnten am ehesten die Wellenlängen um etwa 980 nm, 1410 nm, 1890 nm und 2150 nm zur spektroskopischen Analyse der Glucose geeignet sein.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind dagegen die Spektralbereiche mit geringer Abhängigkeit der Absorption einer wässrigen Glucoselösung von der Glucosekonzentration vorteilhaft einsetzbar. Konkret sind etwa die Wellenlängen zwischen 400 nm und 940 nm, zwischen 1020 nm und 1390 nm, zwischen 1430 nm und 1880 nm, zwischen 1900 nm und 2050 nm sowie zwischen 2250 und 2500 nm geeignet. Besonders bevorzugt sind die in den Figuren 1 und 2 mit römischen Ziffern bezeichneten Wellenlängenbereiche, nämlich:

I. 400 bis 600 nm.

II. 750 bis 850 nm, vorzugsweise 780 bis 920 nm, besonders bevorzugt 780 bis 825 nm oder 850 bis 900 nm.

III. 1050 bis 1350 nm, vorzugsweise 1200 bis 1300 nm und

IV. 1600 bis 1800 nm, vorzugsweise 1630 bis 1770 nm, besonders bevorzugt 1630 nm bis 1670 nm oder 1730 nm bis 1770 nm.

Die Messung sollte bevorzugt näherungsweise monochromatisch sein. "Monochromatisch" ist dabei im praktischen Sinne dahingehend zu verstehen, daß der überwiegende Teil der Intensität in einem relativ engen Wellenlängenbereich emittiert und/oder detektiert wird. Die Halbwertsbreite sollte weniger als 100 nm, bevorzugt weniger als 50 nm betragen. Im Gegensatz zu den spektroskopischen Verfahren zur nicht-invasiven Glucose-Analyse können relativ breitbandige Lichtquellen (mit Halbwertsbreiten größer als 20 nm) wie beispielsweise Leuchtdioden oder andere Halbleiter-Lichtquellen ohne anschließende spektrale Selektion eingesetzt werden. Hierdurch werden die Kosten für die Apparatur erheblich verringert. Soweit hier auf "die Wellenlänge" der Lichtquelle bzw. des Primärlichts Bezug genommen wird, bezieht sich diese Aussage auf die Wellenlänge des Intensitätsmaximums.

Im Gegensatz zu den bekannten spektroskopischen Verfahren ist es ausreichend, wenn die mindestens zwei Detektionsmessungen bei jeweils nur einer Wellenlänge durchgeführt werden. Die Tatsache, daß das Meßsignal von der Wellenlänge weitgehend unabhängig ist, ermöglicht es, für die Messung solche Wellenlängenbereiche auszuwählen, bei denen die Störungen durch stark absorbierende Substanzen möglichst gering sind. In dem Bereich um 802 nm ist die gemessene Intensität näherungsweise unabhängig von dem Konzentrationsverhältnis zwischen Hb und HbO₂, weil diese Substanzen dort einen isosbestischen Punkt besitzen. Dies gilt auch in einem breiten isosbestischen Bereich zwischen 1200 und 1300 nm. Zusätzlich ist in diesem Bereich die Absorption von Hämoglobin und Wasser etwa gleich

groß. Dadurch ergibt sich eine besonders gute Unabhängigkeit der gemessenen Intensität von dem Verhältnis von Hb, HbO₂ und H₂O.

Im Rahmen der experimentellen Erprobung der Erfindung hat sich gezeigt, daß verhältnismäßig kurze Wellenlängen, insbesondere zwischen 400 und 600 nm wegen der damit verbundenen verhältnismäßig geringen Eindringtiefe in biologischem Gewebe besonders vorteilhaft sein können. Aus experimentellen Beobachtungen bestehen Anhaltspunkte, daß dies insbesondere wegen der gleichmäßigeren Verteilung des Blutes in den obersten Hautschichten und möglicherweise auch wegen einer besseren Korrelation der Glucosekonzentration mit der Blutglucose vorteilhaft ist.

Überraschenderweise wird auf Basis der vorliegenden Erfindung in Wellenlängenbereichen, in denen die Absorption nur eine geringe Abhängigkeit von der Glucosekonzentration hat, ein relativer Signalhub dI/dC festgestellt, der sehr viel größer ist, als auf Basis der Absorption selbst in den engen Wellenlängenbereichen zu erwarten ist, in denen die Absorption der reinen Glucoselösung verhältnismäßig stark von der Glucosekonzentration abhängt. Der Wert des relativen Signalhubs ist von dem jeweiligen Meßaufbau abhängig, beträgt jedoch bei Messungen an der menschlichen Haut allgemein mehr als 0,5 % je 100 mg/dl und ist damit mindestens zehn mal so groß wie der relative Signalhub, der aufgrund der Absorptionsänderung zu erwarten wäre.

Nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand der Erfinder läßt sich dieser Effekt wie folgt erklären.

Die Änderung der Glucosekonzentration führt zu einer Änderung des Brechungsindex der in der biologischen Matrix

enthaltenen Flüssigkeit, in der die Glucose gelöst ist. Die Änderung des Brechungsindex führt zu einer Änderung der Lichtstreuung an den in der Matrix enthaltenen Streuzentren. Diese Änderung ist allerdings bei jedem einzelnen Streuprozess extrem klein. Die Änderung des Brechungsindex pro mmol beträgt nur etwa 0,002 %. Im Rahmen der Erfindung wurde festgestellt, daß sich dieser extrem kleine Effekt zur Analyse von Glucose praktisch nutzen läßt, wenn man eine Vielzahl von Streuprozessen vieler Photonen, die einen untereinander ähnlichen Lichtweg in der biologischen Matrix durchlaufen haben, erfaßt.

Bei der Erfindung ist das Meßverfahren also so angelegt, daß idealerweise das vom Brechungsindex abhängige Streuverhalten des die Streuzentren umgebenden Raumes innerhalb der biologischen Matrix bestimmt wird. Im Rahmen der Erfindung wurde festgestellt, daß dieser Mechanismus sehr sensitiv ist, d.h. die gemessenen Signale sich bei verhältnismäßig geringen Änderungen der Glucosekonzentration stark ändern. Die erhöhte Empfindlichkeit führt im Vergleich zu bekannten in vivo-Analyse-Verfahren für Glucose auch zu einer verbesserten Selektivität, weil die Variation der erfindungsgemäß genutzten Vielfachstreuung in den wichtigsten biologischen Matrices Blut und Hautgewebe im wesentlichen nur von der Glucose-Konzentration abhängt.

Dieser erstaunliche Effekt läßt sich durch die Vielfachstreuung erklären, die im Rahmen der vorliegenden Erfindung für die Analyse der Glucose nutzbar gemacht wird. Die erfindungsgemäße Meßtechnik kann deswegen auch als "durch Vielfachstreuung verstärkte Glucosedetektion" (MSAGD; Multiple Scattering Amplified Glucose Detection) bezeichnet werden.

Aufgrund der vorliegenden Erfindung ist davon auszugehen, daß der Effekt, der der MSAGD zugrundeliegt, bei spektralanalytischen Analysen anderer Bestandteile einer optisch heterogenen biologischen Matrix eine erhebliche Störung darstellt. Es kann deshalb vorteilhaft sein, auch bei einem solchen spektralanalytischen Verfahren zur Korrektur von durch Änderungen der Glucosekonzentration verursachten Änderungen der optischen Weglänge mindestens eine orts aufgelöste Messung von vielfach gestreutem Licht durchzuführen. Ein solches Verfahren ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Durch das Erfordernis der Vielfachstreuung unterscheidet sich die MSAGD grundlegend von den bisherigen Ansätzen zur nicht-invasiven Analyse. Bei der Infrarotspektroskopie, die auf der Messung der Wellenlängenabhängigkeit der Absorption basiert, wird die optische Streuung als störend empfunden. Demzufolge werden nach Möglichkeit Körperteile ausgewählt, die eine möglichst geringe Streuung des Lichtes bewirken. Beispielsweise wurde vorgeschlagen, NIR-spektroskopische Bestimmungen an der Vorderkammer des Auges durchzuführen, welche eine verhältnismäßig klare und demzufolge nichtstreuende Flüssigkeit enthält (US-Patent 4,014,321).

Zur Verdeutlichung sind in Figur 3 die Ergebnisse eines Laborversuchs dargestellt. Dabei wurde unter sonst gleichen Meßbedingungen der Glucoselösung, deren Spektrum in Figur 1 dargestellt ist, Milch mit einem Fettgehalt von 3,5 % in einer Konzentration von 0,1 Vol. % zugegeben. Es zeigt sich im gesamten dargestellten Spektralbereich eine starke Vergrößerung des relativen Signalhubs dI/dC , wobei dieser bei kleinen Wellenlängen besonders groß ist, insgesamt aber nur eine geringe und stetige Abhängigkeit von der Wellenlänge zeigt. Durch die Zugabe der Milch wird

aus der klaren Glucoselösung eine optisch heterogene Matrix, in der dispergierte Milchtröpfchen den MSAGD-Effekt bewirken.

Wie der Vergleich der Figuren 1 und 3 zeigt, unterscheidet sich das MSAGD-Signal von Absorptionsmessungen auch dadurch, daß die Änderung der Intensität in Abhängigkeit von der Konzentration dI/dC weitgehend unabhängig von der Wellenlänge ist. Eine bestimmte Änderung der Glucosekonzentration führt demzufolge zu einer etwa gleich großen Änderung der Intensität des Sekundärlichtes, auch wenn sich die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes um beispielsweise 100 nm unterscheidet. Im Gegensatz dazu ist bei einer auf der Absorption der Glucose basierenden Detektionsmessung die Änderung dI/dC in einem stärker absorbierenden Wellenlängenbereich (Absorptionsbande) wesentlich höher als in einem gering absorbierenden Wellenlängenbereich. Dies wird bei spektroskopischen Messungen genutzt, um eine Wellenlänge mit starker Absorption als Meßwellenlänge und eine Wellenlänge mit schwacher Absorption als Referenzwellenlänge zu verwenden. Hierfür ist eine schmalbandige ("hochdispersive") Messung (mit einer Halbwertsbreite kleiner als 10 nm, häufig kleiner als 1 nm) in einem breiten Spektralbereich notwendig.

Bei der Erfindung ist aufgrund der geringen Abhängigkeit von der Meßwellenlänge keine schmalbandige Messung erforderlich. Es können deswegen kostengünstige Halbleiter-Lichtsender (insbesondere Leuchtdioden) verwendet werden, ohne daß zusätzliche Maßnahme zur Selektion der Wellenlänge auf der Primärseite oder auf der Sekundärseite erforderlich sind. Soweit mehrere Lichtsender mit gleicher Wellenlänge eingesetzt werden, wird eine im Rahmen der Erfindung ausreichende Gleichheit schon dann erreicht, wenn kommerziell erhältliche Halbleiter-Lichtsender mit

gleicher Nominalwellenlänge verwendet werden. Deshalb kann eine erfindungsgemäße Vorrichtung besonders klein, leicht und kostengünstig aufgebaut sein. Sie eignet sich daher in besonderem Maße für die Dauerüberwachung der Glucosekonzentration eines Diabetes-Patienten.

Wesentlich für die meßtechnische Realisierung des MSAGD-Effektes an realen biologischen Matrices ist, daß die Bedingungen der orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht (spatially resolved measurement of multiply scattered light: "SRMMSL"; nachfolgend abgekürzt als "orts aufgelöste Streulichtmessung" bezeichnet) erfüllt werden, d.h. es muß die "Ortsabhängigkeitsbedingung" und die "Vielfachstreuungsbedingung" eingehalten werden.

Die Ortsabhängigkeitsbedingung ist so zu verstehen, daß sich die Messung des Sekundärlichts (im Gegensatz zu der EP-A-0 074 428) nicht auf eine Strahlrichtung oder einen Winkelbereich des von dem Meßobjekt gestreuten oder des von dem Meßobjekt reflektierten Lichts bezieht, sondern auf einen definierten Teilbereich (Areal, Bezirk) einer die biologische Matrix begrenzenden Grenzfläche, der als Detektionsort bezeichnet wird. Auch die Einstrahlung des Primärlichts erfolgt in einem definierten Teilbereich einer Grenzfläche der biologischen Matrix, der als Einstrahlungsort bezeichnet wird. Eine solche Messung wird als "ortsabhängige Detektionsmessung" bezeichnet.

Die Begriffe "Einstrahlungsort" und "Detektionsort" sind (etwa im Sinne des englischen Begriffes "site") also geometrisch zu verstehen, nämlich als der Teilbereich der Grenzfläche einer biologischen Matrix, an dem Lichtstrahlen, die bei der jeweiligen Detektionsmessung für den Intensitätsmeßwert bestimmend sind, durch die Grenzfläche hindurchtreten. Als Sammelbegriff für den Eintrittsort

und den Detektionsort wird nachfolgend deshalb auch die Bezeichnung "Durchtrittsort" verwendet. Soweit nachfolgend Angaben über Distanzen zwischen Durchtrittsorten gemacht werden, beziehen sich diese jeweils auf die Mitte des Einstrahlungsortes bzw. des Detektionsortes. Die Mitte wird bei einer kreisförmigen Gestaltung von dem Mittelpunkt, bei einer länglichen Gestaltung von der Mittellinie, gebildet.

Die "Vielfachstreuungsbedingung" ist so zu verstehen, daß die Durchtrittsorte (also der Einstrahlungsort und der Detektionsort) relativ zueinander so angeordnet sind, daß an Streuzentren der biologischen Matrix vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist. Um dies zu gewährleisten ist folgendes zu berücksichtigen.

Die mittlere freie Weglänge von Photonen im Gewebe oder den erwähnten Körperflüssigkeiten ist von der Wellenlänge und der jeweiligen Dichte und Größe der vorhandenen Streuzentren abhängig. Typischerweise liegt sie etwa zwischen 0,01 mm und 0,1 mm. Auf dem Lichtweg in der biologischen Matrix von dem Einstrahlungsort bis zu dem Detektionsort sollten mindestens etwa 10, vorzugsweise mindestens etwa 100 Streuprozesse stattfinden. Der Lichtweg innerhalb der biologischen Matrix ist stets länger (vielfach sogar erheblich länger) als die direkte Verbindung zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort. Als praktische Regel läßt sich jedoch angeben, daß der Abstand zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort mindestens der zehnfachen, vorzugsweise mindestens der zwanzigfachen mittleren freien Weglänge der Photonen in der jeweiligen biologischen Matrix bei der jeweiligen Wellenlänge des Primärlichtes entsprechen sollte.

Der maximale Abstand zwischen dem Einstrahlungsort und dem Detektionsort ist ebenfalls von der mittleren freien Weglänge der Photonen abhängig. Oberhalb einer im Einzelfall experimentell zu bestimmenden Grenze geht die Intensität des Signals derart zurück, daß das Signal/Rauschverhältnis schlecht wird. Vorzugsweise sollte der Abstand zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort weniger als 30 mm, besonders bevorzugt weniger als 15 mm betragen. Um ausschließlich an Streuzentren der biologischen Matrix vielfach gestreutes Licht zu erfassen, muß darüberhinaus auf eine sorgfältige Abschirmung des Primärlichts von dem Detektor, mit dem das Sekundärlicht gemessen wird, geachtet werden.

Die Vielfachstreuung führt dazu, daß das am Detektionsort austretende Licht weitgehend diffusen Charakter hat, d.h. seine Intensität ist weitgehend unabhängig von dem Austrittswinkel, unter dem es erfaßt wird. Wenn das Primärlicht kohärent und/oder polarisiert ist, gehen diese Eigenschaften durch die Vielfachstreuung weitgehend verloren. Aus diesem Grund muß bei der Erfindung im allgemeinen (im Gegensatz zu der EP-A-0 074 428) kein Laser als Primär-Lichtquelle verwendet werden. Auch durch den im Sekundärlicht noch erhaltenen Polarisationsgrad läßt sich testen, ob die für die Erfindung erforderliche "Vielfachstreuungsbedingung" erfüllt ist. Beispielsweise sollte der Polarisationsgrad des Sekundärlichts weniger als 10 % eines eingestrahnten polarisierten Primärlichtes betragen.

Der Einstrahlungsort und der Detektionsort können bei der orts aufgelösten Streulichtmessung sehr unterschiedliche Dimensionen und geometrische Formgebungen haben. Wesentlich ist nur, daß durch die orts aufgelöste Streulichtmessung eine Information über die Intensität des Sekundär-

lichtes in Abhängigkeit von der relativen Position des Einstrahlungsortes und des Detektionsortes (nicht etwa in Abhängigkeit vom Detektionswinkel) gewonnen wird. Mehrere solcher orts aufgelösten Messungen von vielfach gestreutem Licht, bei denen der jeweilige Detektionsort einen unterschiedlichen Abstand vom jeweiligen Einstrahlungsort hat, ergeben somit eine Information $I(D)$ über die funktionale Abhängigkeit der Intensität I vom Abstand r .

Im allgemeinsten Fall kann der Einstrahlungsort und vor allem der Detektionsort bei der orts aufgelösten Streulichtmessung relativ große Abmessungen haben. Bevorzugt sind jedoch Ausführungsformen, bei denen die Durchtritts-orte in Richtung der die jeweiligen Einstrahlungs- und Detektionsorte verbindenden Abstandsgeraden (kürzeste Verbindung) eine verhältnismäßig kleine Dimension von vorzugsweise weniger als 2 mm, besonders bevorzugt weniger als 1 mm haben.

Vorzugsweise befindet sich bei der orts aufgelösten Streulichtmessung der Detektionsort an der gleichen Grenzfläche wie der Einstrahlungsort, d.h. es wird "in Reflexion" gemessen. Soweit zwei einander gegenüberliegende Grenzflächen der biologischen Matrix zugänglich sind, kann jedoch auch "in Transmission" gemessen werden, wobei sich der Einstrahlungsort und der Detektionsort auf gegenüberliegenden Grenzflächen der biologischen Matrix befinden. Dabei dürfen die Begriffe "Transmission" und "Reflexion" im Hinblick auf den diffusen Charakter des an dem Detektionsort austretenden Lichtes natürlich nicht so verstanden werden, daß das Sekundärlicht mit einer stark dominierenden Vorzugsrichtung aus der Matrix austritt.

Bei der Erfindung werden die Intensitätsmeßwerte der mindestens zwei Detektionsmessungen verwendet, um in einem

Auswerteschritt des Verfahrens mittels eines Auswertalgorithmus und einer Kalibration die Glucosekonzentration zu ermitteln ("abzuleiten"). Mindestens eine erste dieser Detektionsmessungen muß eine ortsaufgelöste Streulichtmessung sein. Bei einer zweiten Detektionsmessung kann grundsätzlich auch ein anderes Verfahren verwendet werden.

Wesentlich bevorzugt ist jedoch eine Ausführungsform, bei der mindestens zwei ortsaufgelöste Streulichtmessungen durchgeführt werden, aus deren Intensitätsmeßwerten die Glucosekonzentration abgeleitet wird. Es wurde gefunden, daß sich aus der Abhängigkeit $I(D)$ der Intensität I von dem Meßabstand D , die mit mindestens zwei ortsaufgelösten Streulichtmessungen bestimmt werden kann, eine besonders störungsarme und dadurch genaue Information über die Glucosekonzentration erhalten wird. Dabei werden die zwei oder mehr ortsaufgelösten Streulichtmessungen bei gleicher Wellenlänge durchgeführt. Soweit dabei mehrere Lichtsender benutzt werden, ist es ausreichend, wenn deren Wellenlänge im Rahmen üblicher Serienschwankungen von Leuchtdioden mit gleicher Nominalwellenlänge übereinstimmt.

Selbstverständlich kann auch eine größere Anzahl von ortsaufgelösten Streulichtmessungen durchgeführt und insgesamt zur Ableitung der Glucosekonzentration verwendet werden. Bei mindestens zwei dieser Messungen sollten sich die Lichtwege deutlich voneinander unterscheiden. Bei einer ortsaufgelösten Streulichtmessung ist der Begriff "Lichtweg" wegen der Vielfachstreuung in der biologischen Matrix natürlich nicht im Sinne eines geometrisch streng begrenzten Teilvolumens der biologischen Matrix (wie bei einer klassischen Transmissionsspektroskopie einer nichtstreuenden Flüssigkeit in einer Küvette) zu verstehen.

Dennoch ist es sinnvoll, den Begriff "Lichtweg" zu benutzen, wobei er beispielsweise als dasjenige Teilvolumen der biologischen Matrix verstanden werden kann, in dem ein bestimmter Prozentsatz (beispielsweise 70 %) des ausgehend von einem bestimmten Einstrahlungsort bei einem bestimmten Detektionsort eintreffenden, in der Matrix vielfach gestreuten Lichtes transportiert wird.

In der Praxis wird ein unterschiedlicher Lichtweg bei zwei orts aufgelösten Streulichtmessungen dadurch realisiert, daß sich die Meßabstände zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort hinreichend unterscheiden. Der durch die unterschiedlichen Lichtwege verursachte Intensitätsunterschied des Sekundärlichts (bezogen auf eine gleiche Flächenausdehnung des Detektionsortes und bei gleicher Intensität des eingestrahlten Primärlichts) sollte mindestens einen Faktor 3, vorzugsweise mindestens einen Faktor 5, besonders bevorzugt mindestens einen Faktor 10 ausmachen.

Die Tatsache, daß mehrere Detektionsmessungen bei gleicher Meßwellenlänge aber unterschiedlichem Meßabstand zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort stattfinden, ist ein grundsätzlicher Unterschied gegenüber üblichen spektroskopischen Verfahren. Bei spektroskopischen Verfahren werden zur Gewinnung eines Wertes der gesuchten Analytkonzentration Detektionsmessungen bei mehreren Wellenlängen, jedoch völlig identischem Meßabstand, eingesetzt. Jede Änderung des Meßabstandes würde dabei eine Verfälschung des Meßergebnisses verursachen.

Besonders bevorzugt ist eine Ausführungsform, bei der vorzugsweise für zwei unterschiedliche Meßabstände jeweils mindestens zwei ortsauflösende Streulichtmessungen mit gleichem Meßabstand zwischen Einstrahlungsort und De-

tektionsort durchgeführt werden, bei denen sich mindestens entweder die Einstrahlungsorte oder die Detektionsorte, vorzugsweise sowohl der Einstrahlungsort als auch der Detektionsort, unterscheiden.

Eine solche Ausführungsform scheint zunächst nicht sinnvoll, weil zwei Messungen an der gleichen biologischen Matrix mit gleich langem Lichtweg zum gleichen Ergebnis führen müßten, d.h. durch die zusätzliche Messung würde keine zusätzliche Information gewonnen. Informationstechnisch ausgedrückt ist die zusätzliche Messung bei gleichem Meßabstand redundant. Im Rahmen der Erfindung wurde jedoch festgestellt, daß solche redundante Messungen vorteilhaft sind, weil sie es ermöglichen, potentielle Meßfehler durch Inhomogenitäten in der biologischen Matrix (speziell in Hautgewebe) zu erkennen und zu eliminieren.

Vorzugsweise erfolgen die mindestens zwei Detektionsmessungen gleichzeitig oder in ausreichend kurzem zeitlichem Abstand. Als ausreichend kurz ist dabei ein zeitlicher Abstand zu verstehen, bei dem zwischen den Messungen, die zur Ableitung eines Konzentrationswertes der Glucose verwendet werden, keine die Meßgenauigkeit beeinträchtigende Veränderung der biologischen Matrix stattfindet. Apparativ wird dies vorzugsweise dadurch realisiert, daß umschaltbare Einstrahlungsmittel und/oder Detektionsmittel vorgesehen sind, um ohne bewegliche Teile die Einstellung unterschiedlicher Paare von Durchtrittsorten zu ermöglichen.

Obwohl Messungen bei einer Wellenlänge ausreichen, kann es selbstverständlich sinnvoll sein, bei weiteren zusätzlichen Wellenlängen zu messen, insbesondere um Störgrößen besser eliminieren zu können. Zu diesen Störgrößen gehö-

ren unter anderem eventuelle Veränderungen der Streuzentren, sowie die Wasserabsorption und die Hämoglobin-Absorption, welche ihrerseits unmittelbar von dem Blutvolumen in der untersuchten biologischen Matrix abhängt. Hiermit im Zusammenhang steht die Tatsache, daß die Intensität des Sekundärlichts vom Blutpuls und der Körpertemperatur beeinflusst wird. Diese Einflüsse lassen sich jedoch beherrschen. Bezüglich des Blutpuls kann entweder über eine ausreichende Anzahl von Pulsperioden gemittelt oder pulssynchron gemessen werden. Die Variation der Körpertemperatur kann aufgezeichnet und zur Kompensation verwendet werden. Alternativ wird der Detektionsbereich, in dem sich die Durchtrittsfelder befinden, aktiv thermostatisiert. Da mit einer solchen Temperaturregelung ein relativ hoher Energieverbrauch verbunden ist, wird bei einer im Rahmen der Erfindung bevorzugten Vorrichtung zur in-vivo-Analyse der Meßbereich sorgfältig thermisch isoliert.

Um in dem Auswerteschritt aus den Intensitätsmeßwerten die Glucosekonzentration abzuleiten, ist ein Auswertalgorithmus und eine Kalibration erforderlich. Insoweit unterscheidet sich die Erfindung nicht wesentlich von bekannten Analyseverfahren, die ebenfalls - wie oben erläutert - eine Kalibration benötigen, um die gemessene Meßgröße (beispielsweise den Farbumschlag bei kolorimetrischen Tests) der jeweiligen Konzentration zuzuordnen.

Im einfachsten Fall enthält der Algorithmus bei der vorliegenden Erfindung eine einfache vorherbestimmte mathematische Funktion, um aus den Intensitätsmeßwerten I der Detektionsmessungen eine Zwischengröße zu ermitteln, die man als Meßresultat R bezeichnen kann. Praktisch gut bewährt hat sich eine einfache Quotientenbildung zwischen den Intensitätsmeßwerten der ersten und zweiten Detekti-

onsmessung. Durch Kalibration mit mindestens zwei, vorzugsweise aber mehreren Standardproben bekannter Glucosekonzentration läßt sich dann in bekannter Weise das Meßresultat R mit der Konzentration C der Glucose verknüpfen.

In neuerer Zeit werden in der Analysetechnik zunehmend mathematisch anspruchsvollere Verfahren verwendet, um die Korrelation zwischen den gemessenen Meßwerten und der gesuchten Konzentration (und damit die Analysegenauigkeit) zu verbessern. Hierzu gehören exponentielle oder logarithmische Berechnungen sowie iterative Verfahren zur optimalen Beschreibung der Zuordnung. Zur Verbesserung der Analysegenauigkeit kann es darüberhinaus vorteilhaft sein, Einflußgrößen, die neben der Glucosekonzentration die gemessene Intensität beeinflussen (wie insbesondere die Temperatur am Meßort und den Puls) mit Hilfe von Korrelationsverfahren zu kompensieren. Zur Erfassung einer Vielzahl von Einflußgrößen können multilineare und nicht-lineare mathematische Algorithmen bei der Auswertung von Analysemessungen eingesetzt werden. Dies ist auch bei der vorliegenden Erfindung möglich und kann vorteilhaft sein, insbesondere wenn eine Vielzahl von Detektionsmessungen mit unterschiedlichen Paarungen von Durchtrittsorten durchgeführt und der Analyse zugrundegelegt wird. In diesem Fall kann auch der Einsatz lernfähiger Systeme (neuronaler Netze) vorteilhaft sein.

Umfangreiche nähere Informationen über Auswertealgorithmen, die zur Verknüpfung der Ergebnisse von Detektionsmessungen mit der gesuchten Analytkonzentration geeignet sind, sind den einleitend genannten Druckschriften zu entnehmen.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von in den Figuren schematisch dargestellten Ausführungsbeispielen näher erläutert; es zeigen:

- Fig. 1 Ein Absorptionsspektrum von Glucose in Wasser in einem ersten Wellenlängenbereich für unterschiedliche Glucosekonzentrationen;
- Fig. 2 ein Differenz-Absorptionsspektrum von Glucose in Wasser gegen reines Wasser in einem zweiten Wellenlängenbereich für unterschiedliche Glucosekonzentrationen;
- Fig. 3 ein Spektrum entsprechend Figur 1 nach Zugabe von Milch in die Glucoselösung;
- Fig. 4 eine perspektivische Prinzipdarstellung einer ersten Ausführungsform der Erfindung;
- Fig. 5 eine perspektivische Prinzipdarstellung einer zweiten Ausführungsform der Erfindung;
- Fig. 6 eine perspektivische Prinzipdarstellung einer dritten Ausführungsform der Erfindung;
- Fig. 7 eine perspektivische Prinzipdarstellung einer vierten Ausführungsform der Erfindung;
- Fig. 8 eine Prinzipdarstellung eines Einstrahlungsfeldes und eines Detektionsfeldes in Aufsicht bei einer fünften Ausführungsform der Erfindung;
- Fig. 9 bis Fig. 12 Prinzipdarstellungen unterschiedlicher Anordnungen von Einstrahlungsorten und Detektionsorten auf einer Grenzfläche einer biologischen Matrix;
- Fig. 13 eine Schnittdarstellung von einer praktischen Ausführungsform eines für die Erfindung geeigneten Meßkopfes;
- Fig. 14 eine Ansicht des Meßkopfes gemäß Figur 13 von der Unterseite her, die mit der biologischen Matrix kontaktiert wird;

- Fig. 15 eine vergrößerte Ausschnittsdarstellung aus Figur 14;
- Fig. 16 einen graphischen Vergleich der mit der Erfindung und mit einer Referenzmethode gewonnenen Analyseergebnisse;
- Fig. 17 eine Seitenanschnitt-Schnittdarstellung einer Meßvorrichtung zur Analyse am Finger;
- Fig. 18 eine Aufsicht-Schnittdarstellung zu der Ausführungsform von Fig. 17;
- Fig. 19 eine Aufsicht auf die Meßvorrichtung bei einer Ausführungsform nach Figur 17 und 18;
- Fig. 20 ein Blockschaltbild einer für die Erfindung geeigneten elektronischen Schaltung.
- Fig. 21 eine Ansicht entsprechend Fig. 14 von einer alternativen Ausführungsform eines Meßkopfes;
- Fig. 22 einen Schnitt durch den Lichttransmissionsbereich 34 des in Fig. 21 dargestellten Meßkopfes entlang der Schnittlinie S.

Die Figuren 1 bis 3 wurden vorstehend bereits erläutert.

In den Figuren 4 bis 7 ist eine optisch heterogene biologische Matrix 10 symbolisch als Quader dargestellt. Sie wird durch eine obere Grenzfläche 11a und eine untere Grenzfläche 11b begrenzt. Konkret kann die biologische Matrix beispielsweise Blut sein, wobei in diesem Fall die Grenzflächen entlang den Innenwänden eines optisch transparenten Gefäßes (Küvette) verlaufen, in dem sich das Blut zur analytischen in-vitro-Untersuchung befindet. Wenn die biologische Matrix ein Gewebe ist, wird die Grenzfläche von der Oberfläche des Gewebes gebildet.

Die Figuren 4 bis 8 verdeutlichen unterschiedliche Varianten möglicher Anordnungen von einem oder mehreren Einstrahlungsarten 12 bzw. einem oder mehreren Detektions-

orten 14 an einer biologischen Matrix 10 bei einer orts aufgelösten Streulichtmessung im Sinne der Erfindung. Dabei sind die Einstrahlungsorte 12 jeweils als schmale langgestreckte Einstrahlungsfelder 12a-12f und die Detektionsorte als langgestreckte, schmale Detektionsfelder 14a-14i ausgebildet. Eine solche langgestreckte Form der Durchtrittsorte 12,14 hat sich als praktisch gut brauchbarer Kompromiß zwischen den Anforderungen einer guten räumlichen Auflösung und einer ausreichenden Intensität der eingestrahlten bzw. gemessenen Lichtes bei vertretbaren Herstellungskosten bewährt. Die Länge eines Durchtrittsfeldes sollte mindestens dreimal, bevorzugt mindestens zehnmal so groß wie seine Breite sein. Die durchschnittliche Breite der Durchtrittsfelder beträgt vorzugsweise höchstens 2 mm, besonders bevorzugt höchstens 1 mm. Soweit es nicht auf Besonderheiten der langgestreckten Form ankommt, gelten ähnliche Überlegungen jedoch auch für punkt- oder kreisförmige Durchtrittsorte.

Bei der in Figur 4 dargestellten Ausführungsform wird das Primärlicht 15 durch ein Einstrahlungsfeld 12a in die Matrix 10 eingestrahlt und das Sekundärlicht 17 detektiert, welches aus zwei in unterschiedlichen Meßabständen D1 und D2 zu dem Einstrahlungsfeld 12a verlaufende Detektionsfeldern 14a und 14b austritt.

Auch bei der in Figur 5 dargestellten Ausführungsform tritt das Primärlicht 15 durch ein Einstrahlungsfeld 12b in die biologische Matrix 10 ein und das Sekundärlicht 17 durch zwei Detektionsfelder 14c und 14d aus dieser aus, wobei die Detektionsfelder in unterschiedlichen lateralen Meßabständen D1 und D2 von dem Einstrahlungsfeld 12b angeordnet sind. Die Detektionsfelder 14c und 14d befinden sich bei dieser Ausführungsform jedoch auf der Grenzfläche 11b, die der Grenzfläche 11a, durch welche das

Primärlicht 15 eingestrahlt wird, gegenüberliegt. Bei einer solchen Ausführungsform sind Eintrittsfeld und Austrittsfeld vorzugsweise so angeordnet, daß bei mindestens zwei Paaren von Durchtrittsfeldern die Oberfläche des Austrittsfeldes von keiner die Oberfläche des Einstrahlungsfeldes senkrecht kreuzenden Geraden gekreuzt wird. Mit anderen Worten sollte das Detektionsfeld nicht genau gegenüber dem Einstrahlungsfeld angeordnet, sondern stets lateral versetzt zu diesem sein.

Man kann bei der Anordnung gemäß Figur 4 von einer Messung "in Reflexion" und bei Figur 5 von einer Messung "in Transmission" sprechen, wobei diese Begriffe in dem weiter oben diskutierten Sinn zu verstehen sind.

Wenn die biologische Matrix ein Gewebe, insbesondere Hautgewebe ist, ist bei einer in vivo-Analyse in der Regel nur eine die Matrix begrenzende Grenzfläche (nämlich die Oberfläche der Haut) zugänglich. Dies gilt insbesondere für die im Rahmen der Erfindung bevorzugten Körperteile, nämlich die Fingerbeere, der Rumpf, das Nagelbett, die Skleren oder den inneren Oberarm des Menschen. In diesen Fällen ist nur die - im Rahmen der vorliegenden Erfindung ohnehin bevorzugte - Messung im Reflexionsverfahren möglich, bei der die Einstrahlung des Primärlichtes und die Detektion des Sekundärlichtes an der gleichen Grenzfläche der Matrix erfolgt. In Ausnahmefällen, beispielsweise beim Ohrläppchen, der Lippe, der Zunge oder Hautfalten (beispielsweise zwischen Daumen und Zeigefinger), stehen jedoch auch bei der in-vivo-Analyse an Hautgewebe zwei gegenüberliegende Grenzflächen 11a, 11b zur Verfügung.

Bei der in Figur 6 dargestellten Ausführungsform wird das Primärlicht durch zwei Einstrahlungsfelder 12c, 12d in

die biologische Matrix 10 eingestrahlt und das dabei aus dem Detektionsfeld 14e austretende Sekundärlicht 17 detektiert. Die Einstrahlungsfelder 12d und 12c sind in unterschiedlichen Meßabständen D1 und D2 von dem Detektionsfeld 14e angeordnet, so daß auch bei dieser Ausführungsform die Möglichkeit besteht, das aus dem Detektionsfeld 14e austretende Sekundärlicht in Abhängigkeit von dem Meßabstand von dem jeweiligen Einstrahlungsfeld 12c bzw. 12d zu messen, um aus den beiden Meßwerten eine Meßgröße abzuleiten, die ein Maß für die Konzentration des Analyten in der biologischen Matrix ist.

Bei dieser Ausführungsform müssen selbstverständlich die Sekundärlichtanteile, die von dem Primärlicht der beiden unterschiedlichen Einstrahlungsfelder resultieren, voneinander getrennt werden. Dies kann zweckmäßigerweise durch zeitlich getrennte Einstrahlung erfolgen, wobei die Einstrahlung jedoch in einem ausreichend engen zeitlichen Abstand im Sinne der oben gegebenen Definition erfolgen muß. Alternativ ist es auch möglich, für die Einstrahlung in die beiden Einstrahlungsfelder 12c und 12d unterschiedlich (beispielsweise mit zwei unterschiedlichen Frequenzen) modulierte Licht zu verwenden und die resultierenden Sekundärlichtanteile durch eine entsprechende modulationsabhängige (frequenzabhängige) Detektion, beispielsweise mit Hilfe eines Lock-in-Verstärkers zu messen.

Bei sämtlichen Ausführungsformen der Figuren 4 bis 6 beträgt der maximale Meßabstand D2 zwischen einem Einstrahlungsort und einem Detektionsort einer orts aufgelösten Streulichtmessung 30 mm. Der kürzere Abstand D1 sollte mindestens 0,5 mm, vorzugsweise mindestens 1 mm, betragen. Mit anderen Worten sollte bei einer Ausführungsform gemäß Fig. 1 mit einem festliegenden Einstrahlungsort 12

und unterschiedlichen Detektionsorten 14 die Detektionsorte in einem (in der Figur gestrichelt eingezeichneten) Detektionsbereich 16 liegen, der den Teil der Grenzfläche 11a einschließt, der einen Abstand von mindestens 0,5 mm, bevorzugt mindestens 1 mm und höchstens 30 mm von der Mitte des Einstrahlungsortes 12 hat. Bei einer Ausführungsform gemäß Fig. 6 mit fixiertem Detektionsort 14 und unterschiedlichen Einstrahlungsorten 12 gelten die entsprechenden Werte für den dort gestrichelt eingezeichneten Einstrahlungsbereich 18.

Fig. 7 zeigt eine Ausführungsform, bei der auf der Grenzfläche 11a innerhalb eines Detektionsbereiches 22 eine Vielzahl unterschiedliche Detektionsfelder 14f einstellbar sind, die in unterschiedlichen Abständen zu einem Einstrahlungsfeld 12e verlaufen. Im dargestellten Fall ist dies dadurch realisiert, daß der Detektionsbereich 22 durch ein als Linse 23 symbolisiertes optisches Abbildungssystem in eine Bildebene 24 abgebildet wird, in der sich eine zweidimensionale Anordnung 26 lichtempfindlicher Elemente befindet, welche beispielsweise als CCD's 25 (charge coupled device) realisiert sind.

Durch die optische Abbildung entspricht ein bestimmtes Detektionsfeld einem bestimmten Teilbereich der CCD-Matrix 25. Beispielsweise wird das Feld 14f auf die Reihe 25f und das Feld 14g auf die Reihe 25g der CCD-Matrix 25 abgebildet. Ein bestimmtes Detektionsfeld läßt sich folglich in einfacher Weise dadurch einstellen, daß die Intensitätsmeßsignale von denjenigen lichtempfindlichen Elementen zur Ableitung der Konzentration weiterverarbeitet werden, auf die das gewünschte Detektionsfeld abgebildet wird.

Anhand dieser Ausführungsform wird deutlich, daß die Begriffe "Einstrahlungsfeld" und "Detektionsfeld" bzw. "Einstrahlungsort" und "Detektionsort" geometrisch zu verstehen sind. Es ist nicht unbedingt erforderlich, daß irgendwelche Bauteile der Analysevorrichtung die Grenzfläche der biologischen Matrix, also beispielsweise die Oberfläche der Haut, berühren und in Kontakt zu dem Einstrahlungsort bzw. dem Detektionsort stehen. Erforderlich ist nur, daß der Einstrahlungsort und der Detektionsort für jeden Meßabstand definiert sind, d.h. das Primärlicht an einem bestimmten und begrenzten Einstrahlungsort eingestrahlt und das Sekundärlicht derartig örtlich definiert erfaßt wird, daß bekannt ist, aus welchem bestimmten abgegrenzten Teilbereich der Grenzfläche (Detektionsort) das Sekundärlicht ausgetreten ist, dessen Intensität jeweils erfaßt wird. Ein solcher Meßvorgang muß bei mindestens zwei unterschiedlichen Lichtwegen zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort ablaufen, um aus den daraus gemessenen Intensitätsmeßwerten die für die Analyse charakteristische Meßgröße abzuleiten.

Figur 8 verdeutlicht, daß die schmale, langgestreckte Form der Felder nicht notwendigerweise (wie in den Figuren 4 bis 7) gerade sein muß. Dargestellt ist in Aufsicht auf eine Grenzfläche ein Einstrahlungsfeld 12f in Form eines Abschnitts eines Kreisringes. Zwei Detektionsfelder 14h und 14i verlaufen ebenfalls in Form von Kreisringabschnitten in unterschiedlichen Abständen zu dem Einstrahlungsfeld 12f. Die Kreisringe sind dabei konzentrisch, so daß die Detektionsfelder 14h und 14i in gleichmäßigem Abstand zu dem Einstrahlungsfeld 12f verlaufen.

Eine gute Ortsauflösung wird erreicht, wenn das Licht an einem möglichst eng begrenzten (punktförmigen) Einstrahlungsort eingestrahlt wird und der Detektionsort einen

Kreis oder Kreisabschnitt um diesen Einstrahlungsort bildet. Grundsätzlich kann auch umgekehrt mit einem kreisförmigen Einstrahlungsort und einem im Zentrum dieses Kreises angeordneten punktförmigen Detektionsort gearbeitet werden, wobei hier die Signalintensität geringer ist.

Wenn - wie in den Figuren 4 bis 7 dargestellt - Einstrahlungsfelder und Detektionsfelder gerade und parallel zueinander verlaufen, ist die Ortsauflösung geringer, weil selbstverständlich an jedem Punkt eines langgestreckten Detektionsortes Lichtanteile gemessen werden, die nicht nur von dem unmittelbar gegenüberliegenden Abschnitt des Einstrahlungsfeldes, sondern auch von in Längsrichtung versetzten Abschnitten des Einstrahlungsfeldes eintreffen. Bei der praktischen Erprobung der Erfindung wurde jedoch festgestellt, daß dennoch gute Ergebnisse mit einer solchen Anordnung erreicht werden. Die Ausführungsform nach Figur 8 stellt insofern eine mittlere Lösung dar, als hier die Ortsauflösung wegen der gekrümmten konzentrischen Form besser als bei der geraden Form der Felder gemäß den Figuren 4 bis 7 ist.

Es sind auch andere gekrümmte Formen möglich, wobei jedoch allgemein die Bedingung eingehalten werden sollte, daß die Durchtrittsfelder (gemessen von Mitte zu Mitte) in gleichmäßigem Abstand D_1 , D_2 verlaufen. Soweit sich Einstrahlungsort und Detektionsort auf der gleichen Grenzfläche der biologischen Matrix befinden, sollten der Einstrahlungsort und der Detektionsort stets von einem Streifen 47 (Figur 8) von im wesentlichen gleichmäßiger Breite getrennt sein. Die Dimension des Detektionsfeldes in Richtung der kürzesten Verbindung zu dem Einstrahlungsfeld (also in Richtung der Abstandspfeile D_1, D_2) sollte im Mittel weniger als 2 mm, bevorzugt weniger als 1 mm, betragen.

Die Figuren 9 bis 12 zeigen in einer schematisierten Darstellung (in Aufsicht auf die Grenzfläche) unterschiedliche Anordnungen, bei denen redundante Messungen möglich sind, d.h. mehrere orts aufgelöste Streulichtmessungen mit gleichen Meßabständen und gleicher Meßwellenlänge, aber unterschiedlichen Einstrahlungs- und/oder Detektionsorten.

Bei der Ausführungsform gemäß Figur 9 sind zwei langgestreckte, rechteckige Detektionsfelder 14k, 14l in gleichen Abständen zwischen zwei ebenfalls rechteckigen Einstrahlungsfeldern 12g, 12h angeordnet. Sämtliche Durchtrittsfelder verlaufen parallel zueinander. Es wird deutlich, daß ein erster Meßabstand D1 sowohl durch Kombination des Einstrahlungsfeldes 12g und des Detektionsfeldes 14k als auch durch Kombination des Einstrahlungsfeldes 12h und des Detektionsfeldes 14l eingestellt werden kann. Ein zweiter größerer Meßabstand D2 ergibt sich durch Kombination der Durchtrittsfelder 12g mit 14l bzw. 12h mit 14k.

Figur 10 zeigt eine entsprechende lineare Anordnung mit zwei äußeren Einstrahlungsorten 12. Auf der Verbindungslinie zwischen den Einstrahlungsorten 12 sind in gleichmäßigen Abständen fünf Detektionsorte 14 angeordnet. Sämtliche Durchtrittsorte sind in diesem Fall punktförmig mit zweckmäßigerweise rundem Querschnitt. Die symbolische Darstellung als Quadrate und Kreise soll lediglich die Differenzierung der Einstrahlungsorte 12 und der Detektionsorte 14 erleichtern. Bei dieser Ausführungsform lassen sich fünf unterschiedliche Meßabstände D1 bis D5 jeweils in zweierlei Weise mit unterschiedlichen Einstrahlungs- und Detektionsorten einstellen, wie dies in der Figur dargestellt ist.

Bei der in Figur 11 dargestellten Ausführungsform sind drei Einstrahlungsorte 12 mit sechs Detektionsorten kombiniert. Die Einstrahlungsorte 12 sind auf einer Geraden mit gleichen Abständen angeordnet. Die Detektionsorte befinden sich im konkreten Fall auf einem Kreis um den zentralen Einstrahlungsort. Allgemein sollten sie spiegelsymmetrisch um die Gerade, auf der die Einstrahlungsorte angeordnet sind, verteilt sein. Bei dieser Anordnung ergibt sich bezüglich des zentralen Einstrahlungsortes 12 eine sechsfache Redundanz, weil jeder der Detektionsorte 14 in gleichem Abstand D_1 von dem zentralen Einstrahlungsort positioniert ist. Bezüglich des oberen und unteren Einstrahlungsortes 12 ergibt sich insgesamt eine vierfache Redundanz für drei unterschiedliche Meßabstände D_2, D_3 und D_4 (in der Figur sind der Übersichtlichkeit halber nur die Meßabstände zu dem oberen Einstrahlungsort eingezeichnet), weil jeder dieser Einstrahlungsorte jeweils mit zwei Detektionsorten kombiniert werden kann, die sich in den entsprechenden Abständen D_2 bis D_4 befinden. Eine solche Anordnung ermöglicht mit relativ wenigen Bauteilen eine hohe Redundanz, weil jeder Meßabstand mit mehr als zwei unterschiedlichen Kombinationen aus Einstrahlungsort 12 und Detektionsort 14 eingestellt werden kann.

Allgemein sind Anordnungen mit mindestens drei unterschiedlichen Einstrahlungsorten und mindestens drei unterschiedlichen Detektionsorten besonders bevorzugt, welche die Einstellung von mehreren unterschiedlichen Meßabständen mit jeweils mindestens drei unterschiedlichen Paarungen von Einstrahlungsort und Detektionsort ermöglichen. Eine mindestens dreifache Redundanz hat den Vorteil, daß in aller Regel erkennbar ist, wenn eine der Streulichtmessungen von den beiden anderen Streulichtmes-

sungen abweicht. Allgemein können grundsätzlich die Einstrahlungsorte und die Detektionsorte vertauscht werden. Aus Kostengründen ist es jedoch vorteilhafter, mehr Detektionsorte als Einstrahlungsorte vorzusehen.

Bei der Ausführungsform gemäß Figur 12 sind eine Vielzahl von Einstrahlungsorten 12 und Detektionsorten 14 schachbrettartig alternierend derartig angeordnet, daß jeder Einstrahlungsort von vier Detektionsorten und jeder Detektionsort von vier Einstrahlungsorten umgeben ist. Eine solche Anordnung ermöglicht es, zahlreiche unterschiedliche Meßabstände jeweils mit einer Vielzahl unterschiedlicher Kombinationen aus Einstrahlungsorten und Detektionsorten einzustellen.

Redundante Meßanordnungen, wie sie in den Figuren 9 bis 12 dargestellt sind, ermöglichen es, potentielle Meßfehler durch Inhomogenitäten der biologischen Matrix zu erkennen und zu eliminieren. Zu diesem Zweck werden mehrere Messungen mit gleichen Meßabständen, aber unterschiedlichen Einstrahlungs- und/oder Detektionsorten durchgeführt und miteinander verglichen. Bei einer homogenen Struktur der untersuchten biologischen Matrix müßte dabei (bei gleicher Intensität des eingestrahltten Primärlichtes) die gleiche Intensität des detektierten Sekundärlichtes gemessen werden. Abweichungen lassen darauf schließen, daß in dem untersuchten Teilbereich der Hautoberfläche störende Strukturen (beispielsweise Narben, Haare oder Fibrome) vorhanden sind, die das Meßergebnis verfälschen. Dies kann auf unterschiedliche Weise korrigiert werden. Beispielsweise kann der auf die Haut aufgelegte Meßkopf in eine andere Position gebracht werden, um den untersuchten Teilbereich der Hautoberfläche ("Meßfocus") so zu ändern, daß die Inhomogenitäten außerhalb des Meßfocus liegen. Bei einer genügenden Redundanz (jedenfalls mehr

als zweifach) ist es auch möglich, einzelne Meßergebnisse als Ausreißer zu erkennen und ohne Variation des Meßfocus zu eliminieren. Schließlich kommt bei einer sehr großen Anzahl von Messungen eine Mittelwertbildung in Betracht. Selbstverständlich können diese Maßnahmen auch kombiniert verwendet werden.

Wenn - wie bei der Ausführungsform gemäß Fig. 7 und Fig. 10 - eine Vielzahl von unterschiedlichen Abständen zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort einstellbar ist, wird der Verlauf der gemessenen Intensität I in Abhängigkeit vom Meßabstand D zwischen dem jeweiligen Detektionsort und dem Einstrahlungsort erfaßt. Wenn die Detektionsorte dabei eng benachbart sind, resultiert ein praktisch kontinuierlicher Kurvenverlauf $I(D)$, der das Profil des detektierten Sekundärlichtes in Abhängigkeit vom Abstand zwischen dem jeweiligen Einstrahlungsort und dem jeweiligen Detektionsort repräsentiert. In diesem Fall kann zur Ableitung der für die Analyse charakteristischen Meßgröße ein geeigneter, für solche Zwecke bekannter Regressionsalgorithmus verwendet werden (beispielsweise PLS).

Die Ausführungsform mit einem Detektionsbereich, in welchem eine Vielzahl unterschiedlicher Teilflächen als Detektionsorte eingestellt werden können, läßt sich selbstverständlich auch ohne das in Fig. 7 eingezeichnete optische Abbildungssystem 23 realisieren. Insbesondere ist es möglich, eine zweidimensionale Anordnung lichtempfindlicher Elemente und/oder Lichtsender unmittelbar über der Grenzfläche 11a zu positionieren, wobei mit Hilfe geeigneter Mittel, wie beispielsweise Blenden, Lichtleitern oder dergleichen, dafür Sorge getragen wird, daß jedes lichtempfindliche Element das aus einem bestimmten, abgegrenzten Teilbereich der Grenzfläche 11a austretende Sekundärlicht erfaßt. Eine solche Realisierung ist für die

Ausführungsformen gemäß Fig. 10 bis 12 besonders geeignet und kann in einer Baueinheit integriert sein.

Für die Erfindung ist es vorteilhaft, wenn die Abhängigkeit der Intensität des Sekundärlichts I von dem Abstand D zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort mit guter Ortsauflösung erfaßt wird. Deshalb sollte sowohl der Einstrahlungsort 12, als auch der Detektionsort 14 in Richtung der beide Felder verbindenden Abstandsgeraden eine kleine Abmessung von höchstens 2 mm, vorzugsweise höchstens 1 mm, haben. Vorzugsweise sind die unterschiedlichen Detektionsorte und/oder Einstrahlungsorte, durch die die unterschiedlichen Meßabstände realisiert werden, räumlich getrennt (nicht überlappend).

Eine Ausführungsform, bei der eine Vielzahl unterschiedlicher Detektionsorte mittels einer zweidimensionalen Anordnung lichtempfindlicher Elemente erfaßt werden können (wie bei Fig. 7 und Fig. 12), eröffnet eine Reihe zusätzlicher Möglichkeiten, die nachfolgend erläutert werden. Dabei sollten die Detektionsorte in dichter Folge einstellbar sein. Vorzugsweise können in mindestens einer Dimension, besonders bevorzugt in zwei Dimensionen mindestens zwei, bevorzugt mindestens vier, besonders bevorzugt mindestens acht unterschiedliche Detektionsorte pro cm eingestellt werden.

Zum einen ist es möglich, eine bestimmte Meßposition auf einer Hautoberfläche ("Meßfocus") wiederzufinden. Zum Beispiel können mit Hilfe eines Pattern Recognition Verfahrens charakteristische Strukturen der Oberfläche erkannt werden. Alternativ oder zusätzlich kann auf der Haut eine Markierung (beispielsweise mittels einer in normalem Licht unsichtbarem, im NIR-Licht jedoch kontrastierenden Tätowierung) vorgesehen sein, die von der

zweidimensionalen Anordnung lichtempfindlicher Elemente erkannt und lokalisiert wird.

Zum zweiten können verschiedene Intensitätsprofile, die beispielsweise radial von einem zentralen Einstrahlungs-ort ausgehen, verglichen werden, um negative Einflüsse von in der Haut vorhandenen Heterogenitäten zu erkennen und gegebenenfalls zu eliminieren. Von einer Vielzahl radialer Intensitätsverteilungen, die mit Hilfe der zweidimensionalen Anordnung lichtempfindlicher Elemente erfaßt werden, werden vorzugsweise nur solche mit einem glatten Intensitätsverlauf verwendet.

Weiterhin können aufgrund der großen Datenmenge, die von einer solchen zweidimensionalen Anordnung lichtempfindlicher Elemente erzeugt wird, moderne mathematische Auswerteverfahren eingesetzt werden, die es ermöglichen, aus der Intensitätsverteilung unterschiedliche Einflußfaktoren zu differenzieren. Hierzu gehört die Möglichkeit der Trennung zwischen den Einflüssen der Gewebestruktur und der Glucosekonzentration.

Eine zweite wichtige Möglichkeit ist die Trennung der durch Absorption einerseits und Streuung andererseits verursachten Intensitätsänderung. Zu diesem Zweck müssen Intensitätsprofile mit Hilfe einer zweidimensionalen Anordnung lichtempfindlicher Elemente bei verschiedenen Wellenlängen gemessen werden. Hierzu kann vorteilhaft eine Anordnung mit vielen matrixartig dicht beieinanderangeordneten Einstrahlungs- und Detektionsorten verwendet werden, wobei in der Matrix alternierend Licht mit mindestens zwei unterschiedlichen Wellenlängen eingestrahlt bzw. detektiert wird. Die Anordnung entspricht - abgesehen von der Verwendung mehrerer Wellenlängen - im wesentlichen Fig. 12, wobei jedoch nicht notwendigerweise

ein regelmäßiges Schachbrettmuster mit einer regelmäßig alternierenden Anordnung der Einstrahlungsorte und Detektionsorte verwendet werden muß.

Vorzugsweise entspricht die Anzahl der unterschiedlichen Wellenlängen der Anzahl der wesentlichen Störkomponenten plus einer weiteren Wellenlänge. Bevorzugt sind bei einer solchen Ausführungsform im Hinblick auf die drei wichtigsten Störkomponenten Hb, HbO₂ und H₂O mindestens vier unterschiedlichen Wellenlängen. Aus diesen Meßergebnissen können mittels bekannter Verfahrensweisen die Einflüsse des Streukoeffizienten und des Absorptionskoeffizienten voneinander getrennt werden. Unter Berücksichtigung der Erkenntnisse der vorliegenden Erfindung über den MSAGD-Effekt ist es mit einer solchen zweidimensionalen Mehrwellenlängen-Messung möglich, bei der Bestimmung der Glucosekonzentration mittels der vorliegenden Erfindung die Störeinflüsse der stark absorbierenden Substanzen weitgehend zu eliminieren bzw. umgekehrt beispielsweise bei einer auf der Spektralanalyse basierenden Bestimmung der Konzentration von Hb und HbO₂ die Störungen, die auf unterschiedliche Glucose-Konzentration zurückzuführen sind, ebenfalls weitgehend zu unterdrücken.

Die Figuren 13 bis 15 zeigen eine praktische Ausführungsform eines für die Erfindung geeigneten Meßkopfes 30, der speziell für die in vivo-Bestimmung von Glucose in menschlichem Gewebe geeignet ist.

Der Meßkopf 30 weist ein insgesamt etwa kreisscheibenförmig geformtes Hautkontaktteil 31 auf, welches an einem Meßkopfgehäuse 32 befestigt ist. Das Hautkontaktteil 31 wird bei der Benutzung auf die Oberfläche der Haut 33 gelegt und leicht angedrückt. In seinem Zentrum befindet sich ein quadratischer Lichttransmissionsbereich 34, der

in Figur 15 vergrößert dargestellt ist. Er enthält fünf Reihen 35 bis 39 von Lichtleitfasern 29, welche im dargestellten Beispiel aus jeweils zweiunddreißig Fasern mit einem Durchmesser von jeweils 0,25 mm bestehen. Die Lichtleitfasern 29 sind in dem Lichttransmissionsbereich 34 jeweils so angeordnet, daß ihre Stirnflächen bündig in einer gemeinsamen ebenen Kontaktfläche 42 liegen und beim Auflegen des Hautkontaktteiles 31 auf die Haut 33 in unmittelbarem Kontakt mit der Haut stehen.

Die Reihe 35 von Lichtleitfasern definiert einen Einstrahlungsort. Die Lichtleitfasern 29 dieser Reihe sind zu diesem Zweck durch ein Kabel 40 mit einer nicht dargestellten Zentraleinheit verbunden, in der sich eine vorzugsweise monochromatische Lichtquelle, beispielsweise eine Leuchtdiode oder eine Laserdiode, befindet, deren Licht in die Lichtleitfasern 29 eingekoppelt wird. Die Lichtleitfasern 29 bilden zusammen mit der nicht dargestellten Lichtquelle Lichteinstrahlungsmittel 27 zum gezielten Beleuchten eines definierten Einstrahlungsortes auf einer Hautoberfläche.

Vorzugsweise wird ein Teil der Lichtleitfasern der Reihe 35 dazu verwendet, die Konstanz der Lichtquelle zu kontrollieren. In einem konkreten Experiment wurden sechzehn der zweiunddreißig Fasern zur Einstrahlung des Lichtes und die anderen sechzehn Fasern zur Kontrolle der Lichtstärke verwendet, wobei letztere getrennt von ersteren zusammengefaßt und einem lichtempfindlichen Element zugeführt werden.

Als Meßempfänger können beispielsweise Photodioden verwendet werden, die in dem Meßkopf 30 angeordnet sind. Dabei ist zweckmäßigerweise für jede Reihe 36 bis 39 von Lichtleitfasern 29, die jeweils einen möglichen Detek-

tionsort definieren, ein gemeinsamer Meßempfänger vorgesehen. Die Lichtleitfasern dieser Reihen werden also zusammengefaßt zu jeweils einem Meßempfänger geführt, an dem das aus diesen Lichtleitfasern austretende Licht detektiert wird. Die Reihen 36 bis 39 der Lichtleitfasern 29 bilden zusammen mit dem nicht dargestellten Meßempfänger jeweils Detektionsmittel 28 zum gezielten Messen des an einem definierten Detektionsort austretenden Sekundärlichtes.

Die Stirnflächen der Lichtleitfasern der Reihen 35 bis 39 schließen jeweils bündig mit der den Lichtemissionsbereich 34 nach unten begrenzenden Hautkontaktfläche 42 ab oder stehen geringfügig daraus hervor. Dadurch wird verhindert, daß Licht entlang der Hautoberfläche unmittelbar von dem durch die Reihe 35 definierten Einstrahlungsort zu einem der Detektionsorte gelangen kann, die durch die Reihen 36 bis 39 definiert sind. Selbstverständlich sind auch innerhalb des Meßkopfes 30 die Glasfasern unterschiedlicher Reihen optisch sorgfältig voneinander getrennt, so daß keine Übertragung von Primärlicht zu den Detektionsmitteln stattfinden kann.

Der Meßkopf 30 ist insbesondere für die Verlaufskontrolle der Blutglucose von Diabetikern gedacht. Er wird zu diesem Zweck an einer geeigneten Stelle, beispielsweise an der Oberbauchdecke auf der Haut befestigt. Dies kann beispielsweise mit Hilfe eines Klebebandes erfolgen. Dabei sollte die Kontaktfläche 42 mit ausreichend festem und gleichmäßigem Druck angedrückt werden.

Um Fremdlicht abzuhalten, hat das Hautkontaktteil 31 einen Ring 31a, dessen Durchmesser wesentlich größer als der des Lichttransmissionsbereiches 34 ist. Er besteht aus einem undurchsichtigen Material und schließt mit sei-

nem Rand 31b auf der Haut ab. Alternativ oder zusätzlich kann das Primärlicht mit einer bestimmten Frequenz moduliert sein und frequenzabhängig (beispielsweise mit Hilfe eines Lock-In-Verstärkers) schmalbandig selektiv detektiert werden, um Störlichteinflüsse zu vermindern.

Der Lichttransmissionsbereich 34 ist von einer ringförmigen Heizfläche 41 umgeben, in der eine Flächen-Widerstandsheizung angeordnet ist. Diese kann mit Hilfe eines NTC-Widerstandes und eines PD-Reglers auf eine vorbestimmte Temperatur, beispielsweise 37°, geregelt werden.

Figur 16 zeigt Analyseergebnisse, die einerseits mit einer Referenzmethode und andererseits mit einer Vorrichtung gemäß der Erfindung (Ausführungsform gemäß den Figuren 13 bis 15) erzielt wurden. Aufgetragen ist die Konzentration C in mmol/l über die Zeit t in Minuten. Die durchgezogene Linie 45 markiert die Ergebnisse einer als Referenzmethode verwendeten enzymatischen Analyse der Glucose im Blut des Probanden, während die rechteckigen Markierungen 46 Meßpunkte mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung sind.

Bei dem erfindungsgemäßen Beispiel wurden dabei folgende Meßbedingungen eingehalten.

Es wurde ein Meßkopf gemäß den Figuren 13 bis 15 eingesetzt, wobei das Licht einer Leuchtdiode mit 1 mW Leistung und einer Wellenlänge von 805 nm durch die Lichtleitfaser-Reihe 35 in die Haut eingestrahlt und durch die Reihen 38 und 39 detektiert wurde. Der Abstand der Reihen 38 und 39 von der Reihe 35 (und folglich der Abstand der Detektionsfelder von dem Einstrahlungsfeld) betrug 3 mm bzw. 5 mm.

Zur Ableitung einer für die Konzentration charakteristischen Meßgröße R wurde der Quotient zwischen der Intensität I1 des an der Reihe 39 und der Intensität I2 des an der Reihe 38 gemessenen Lichtes gebildet. Diese Meßgröße $R=I1/I2$ wurde linear kalibriert gemäß der Formel

$$C = a * R + b.$$

Das in Figur 16 dargestellte Ergebnis zeigt eine ausgezeichnete Übereinstimmung der konventionell in vitro im Blut und der erfindungsgemäß in vivo im Hautgewebe gemessenen Werte über einen Zeitraum von fünfeinhalb Stunden.

Figuren 17 und 18 zeigen eine Meßhalterung 50 zur Bestimmung der Glucosekonzentration in einem Finger 51. Der Finger 51 wird dabei in einen paßgenauen Kanal 52 eingeführt, der in einem Halterungsblock 53 ausgebildet ist. Der Halterungsblock 53 besteht aus Aluminium oder einem anderen gut wärmeleitendem Material, welches mit einer nicht dargestellten Heiz- und Thermostatisierungseinrichtung auf eine definierte Temperatur eingestellt ist, die vorzugsweise etwas über der Körper-Normaltemperatur (über 37°C) liegt.

Die den Kanal 52 seitlich begrenzenden Wandelemente 54 sind derartig verschiebbar, daß die Breite des Kanals 52 dem Finger 51 des jeweiligen Patienten angepaßt werden kann. Zur Fixierung des Fingers 51 von oben sind Fixierungselemente 55 vorgesehen, die in Richtung auf den Finger 51 gleitfähig geführt sind und mit einer nicht dargestellten Feder gegen den Finger 51 gedrückt werden.

Der Halterungsblock 53, die Wandelemente 54 und die Fixierungselemente 55 bilden zusammen mit einem den Kanal

52 in Einführrichtung begrenzenden Anschlag 56 insgesamt Fixierungsmittel, durch die der Finger 51 in einer möglichst genau reproduzierbaren Position in Bezug auf die insgesamt mit 58 bezeichnete Meßeinrichtung positioniert wird.

Bei der Meßeinrichtung 58 werden Lichteinstrahlungsmittel 27 durch eine nicht dargestellte Leuchtdiode und durch einen Lichtleitkanal 59 gebildet, durch die Primärlicht auf einen kreisflächenförmigen Einstrahlungsort von etwa 1 mm Durchmesser an der Unterseite der Kuppe des Fingers 51 gerichtet wird. In einem Detektionsbereich 16 sind drei Detektionsorte 14 vorgesehen, die als halbkreisförmige Detektionsfelder 14k - 14m den Einstrahlungsort 12 konzentrisch umgeben. Die Detektionsmittel 28 bestehen dabei, wie in Fig. 19 deutlicher zu erkennen ist, wiederum aus einer Reihe dicht beieinander angeordnete Lichtleitfasern 29, deren Stirnflächen den Lichtleitkanal 59 in der Hautkontaktfläche 42 halbkreisförmig umgeben und je einem Photoempfänger für das Licht von jedem der Detektionsorte 14k, 14l, 14m. Die Lichteinstrahlungsmittel 27 sind von den Detektionsmitteln 28 durch eine Trennwand 62 sorgfältig abgeschirmt.

Ein Infrarot-Temperatursensor 60 ist auf einen Temperatur-Meßort 61 gerichtet, der möglichst nah bei dem Detektionsbereich 16 liegen soll.

Bei der praktischen Erprobung der Erfindung hat es sich als wichtig erwiesen, daß der Anpreßdruck zwischen dem jeweiligen Körperteil und der Hautkontaktfläche der Meßvorrichtung ausreichend hoch und reproduzierbar ist. Bei der in den Figuren 17 und 18 dargestellten Ausführungsform wird dies mit Hilfe eines Andruckstempels 63 erreicht, der von oben auf das vorderste Glied des Fingers

drückt. Als geeignet hat sich eine Andruckkraft in Höhe von etwa 300p (Pond) erwiesen.

Figur 20 zeigt beispielhaft das Blockschaltbild einer elektronischen Schaltung 65, die als Auswertemittel für eine erfindungsgemäße Meßvorrichtung geeignet ist. Von einem Oszillator 66 wird ein Spannungs-Strom-Wandler 67 angesteuert, der die Leuchtdiode 68 speist, die als Lichtquelle dient. Optional kann dabei die Temperatur der Leuchtdiode 68 durch einen NTC 69 überwacht werden, um die Konstanz der Intensität des emittierten Lichtes zu verbessern.

Die Ausgangssignale der Meßempfänger (Photodioden) 70a-70c liegen über jeweils eine Vorverstärkerschaltung 71a-71c an Lock-In-Verstärkern 72a-72c an, denen als Referenz auch das Signal des Oszillators 66 zugeleitet wird. Die Ausgangssignale der Lock-In-Verstärker 72a-72c werden in einer A/D-Wandlereinheit 73 digitalisiert und einer Mikrocomputer-Zentraleinheit 74 zugeleitet. Die Mikrocomputer-Zentraleinheit erhält darüberhinaus die Signale des NTC 69 (verstärkt durch einen Vorverstärker 69a) und eines Temperatursensors 75 (verstärkt durch einen Vorverstärker 75a) zur Messung der Temperatur in dem Detektionsbereich, welcher vorzugsweise (wie der IR-Sensor 60 der Ausführungsform nach Fig. 17) berührungslos arbeitet.

Bei der in Fig. 21 und 22 dargestellten alternativen Ausführungsform sind als Detektionsmittel 28 Halbleiter-Lichtempfänger 80 (beispielsweise Photodioden) und als Lichteinstrahlungsmittel 27 Halbleiter-Lichtsender 81 (beispielsweise Leuchtdioden) alternierend in einem matrixartigen Muster unmittelbar an der Hautkontaktfläche 42 in dem Lichttransmissionsbereich 34 des Hautkontaktteils 31 eines Meßkopfes angeordnet. Wie in Fig. 22

deutlich zu erkennen ist, sind die Halbleiter-Lichtsender 80 und die Halbleiter-Lichtempfänger 81 in dem gleichen Bauteil 83 integriert, wobei die Anordnung ohne konstruktive Einzelheiten lediglich schematisch dargestellt ist. Die praktische Realisierung kann mit einer in der Elektronik üblichen Integrationstechnik, beispielsweise durch monolithische Integration in einem Chip oder in Hybrid-Technik erfolgen. Wesentlich ist dabei, daß sowohl die Lichtsender 81 als auch die Lichtempfänger 80 in unmittelbarem optischen Kontakt zu der Hautoberfläche stehen und gegen die Nachbarelemente abgeschirmt sind, so daß sie das Licht in einen definierten Einstrahlungsort einstrahlen bzw. an einem definierten Detektionsort detektieren.

Die dargestellte Ausführungsform erlaubt die Messung mit zwei verschiedenen Wellenlängen, beispielsweise um - wie weiter oben erläutert - Störungen durch stark absorbierende Substanzen besser eliminieren zu können. In den Figuren sind Halbleiter-Lichtsender 81a und Halbleiter-Lichtempfänger 80a für eine erste Wellenlänge weiß gezeichnet, während Halbleiter-Lichtsender 81b und Halbleiter-Lichtempfänger 80b für eine zweite Wellenlänge schraffiert dargestellt sind.

Bei sämtlichen in den Figuren dargestellten Ausführungsformen erfolgt sowohl die Einstellung unterschiedlicher Meßabstände D als auch die Einstellung unterschiedlicher Wellenlängen (soweit überhaupt erforderlich) ohne bewegliche Teile. Dies ist im Regelfall im Hinblick auf Kosten und Zuverlässigkeit vorteilhaft. Selbstverständlich sind jedoch auch Alternativen mit beweglichen Teilen im Rahmen der Erfindung möglich. So kann die Einstellung unterschiedlicher Meßabstände D dadurch erfolgen, daß entweder die Lichteinstrahlungsmittel 27 oder die Detektionsmittel

28, beispielsweise mit Hilfe eines Spindelantriebs, bewegbar sind, wobei der Verlauf $I(D)$ der Intensität I in Abhängigkeit von dem Meßabstand D durch schrittweises Verstellen dieses Antriebs bestimmt wird.

In besonderen Fällen kann es auch zweckmäßig sein, beispielsweise zum Erfassen von Störgrößen, Mittel zum Einstrahlen und/oder Detektieren eines schmalbandigen Wellenlängenbereiches vorzusehen. Zu diesem Zweck kann auf der Primärseite oder auf der Sekundärseite ein Gittermonochromator vorgesehen sind.

Ansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von Glucose in einer biologischen Matrix (10), umfassend mindestens zwei Detektionsmessungen, bei denen jeweils Licht durch eine die biologische Matrix (10) begrenzende Grenzfläche (11a) als Primärlicht (15) in die biologische Matrix (10) eingestrahlt wird, das Licht in der biologischen Matrix (10) entlang einem Lichtweg propagiert und eine aus der biologischen Matrix (10) durch eine diese begrenzende Grenzfläche (11a, 11b) als Sekundärlicht (17) austretende Lichtintensität gemessen wird, und einen Auswerteschritt, bei dem aus den Intensitätsmeßwerten der Detektionsmessungen mittels eines Auswertealgorithmus und einer Kalibration die Glucosekonzentration abgeleitet wird,
dadurch gekennzeichnet, daß
mindestens eine Detektionsmessung eine orts aufgelöste Messung von vielfach gestreutem Licht ist, bei der das Primärlicht (15) an einem definierten Einstrahlungsort (12) in die biologische Matrix eingestrahlt wird, die Intensität des an einem definierten Detektionsort (14) aus der biologischen Matrix austretenden Sekundärlichts (17) gemessen wird und der Detektionsort (14) relativ zu dem Einstrahlungsort (12) so angeordnet ist, daß an Streuzentren (19) der biologischen Matrix (10) vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.

2. Verfahren zur spektralanalytischen Analyse eines Analyten in einer biologischen Matrix, umfassend

mindestens zwei Detektionsmessungen zur Messung der spektralen Abhängigkeit der Absorption des Analyten bei mindestens zwei unterschiedlichen Wellenlängen, bei denen jeweils Licht durch eine die biologische Matrix (10) begrenzende Grenzfläche (11a) als Primärlicht (15) in die biologische Matrix (10) eingestrahlt wird, das Licht in der biologischen Matrix (10) entlang einem Lichtweg propagiert und eine aus der biologischen Matrix (10) durch eine diese begrenzende Grenzfläche (11a, 11b) als Sekundärlicht (17) austretende Lichtintensität gemessen wird, und

einen Auswerteschritt, bei dem aus den Intensitätsmeßwerten der Detektionsmessungen mittels eines Auswertalgorithmus und einer Kalibration die Analytkonzentration abgeleitet wird,

dadurch gekennzeichnet, daß

zur Korrektur von durch Änderung der Glucosekonzentration verursachten Änderung der optischen Weglänge mindestens eine ortsauflösende Messung von vielfach gestreutem Licht durchgeführt wird, bei der das Primärlicht (15) an einem definierten Einstrahlungsort (12) in die biologische Matrix eingestrahlt wird, die Intensität des an einem definierten Detektionsort (14) aus der biologischen Matrix austretenden Sekundärlichts (17) gemessen wird und der Detektionsort (14) relativ zu dem Einstrahlungsort (12) so angeordnet ist, daß an Streuzentren (19) der biologischen Matrix (10) vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens zwei Detektionsmessungen orts aufgelöste Messungen von vielfach gestreutem Licht sind, bei denen das Primärlicht (15) an einem definierten Einstrahlungsort in die biologische Matrix eingestrahlt wird, die Intensität des an einem definierten Detektionsort (14) aus der biologischen Matrix austretenden Sekundärlichts (17) gemessen wird und der Detektionsort (14) relativ zu dem Einstrahlungsort (12) so angeordnet ist, daß an Streuzentren (19) der biologischen Matrix (10) vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht die Intensitätsänderung des Sekundärlichtes je 100 mg/dl Änderung der Glucosekonzentration mehr als 0,5 % beträgt.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht der Meßabstand (D) zwischen der Mitte des Einstrahlungsortes (12) und der Mitte des Detektionsortes (14) mindestens das 10-fache der freien Weglänge der Photonen in der biologischen Matrix (10) beträgt.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht der Abstand zwischen der Mitte des Einstrahlungsortes und der Mitte des Detektionsortes höchstens 30 mm,

vorzugsweise höchstens 15 mm und besonders bevorzugt höchstens 10 mm beträgt.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Wellenlänge des Primärlichts zwischen 400 nm und 2500 nm liegt.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Wellenlänge des Primärlichtes in einem Bereich gewählt ist, in dem die optische Absorption einer Lösung von Glucose in Wasser eine geringe Abhängigkeit von der Glucosekonzentration zeigt.
9. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Wellenlänge des Primärlichts zwischen 400 und 600 nm liegt.
10. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Wellenlänge des Primärlichts zwischen 750 und 920 nm, vorzugsweise zwischen 780 und 825 nm oder zwischen 850 und 900 nm, liegt.
11. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Wellenlänge des Primärlichts zwischen 1050 und 1350 nm, vorzugsweise zwischen 1200 und 1300 nm, liegt.
12. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Wellenlänge des Primärlichtes zwischen 1600 und 1800 nm, vorzugsweise zwischen 1630 und 1770 nm, besonders bevorzugt zwischen 1630 nm und 1670 nm oder 1730 nm und 1770 nm liegt.

13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht die Dimension des Detektionsortes (14) in der durch die jeweils kürzeste Verbindung zu dem Einstrahlungsort (12) definierten Raumrichtung höchstens 2 mm, bevorzugt höchstens 1 mm beträgt.
14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht die Dimension des Einstrahlungsortes (12) in der durch die jeweils kürzeste Verbindung zu dem Detektionsort (14) definierten Raumrichtung im Mittel höchstens 2 mm, bevorzugt höchstens 1 mm beträgt.
15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht der Einstrahlungsort (12) und der Detektionsort (14) auf gegenüberliegenden Grenzflächen (11a, 11b) der biologischen Matrix (10) angeordnet sind.
16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht der Einstrahlungsort (12) und der Detektionsort (14) an der gleichen Grenzfläche (11a) der biologischen Matrix angeordnet sind, um aus der Matrix (10) diffus reflektierte Strahlung zu messen.
17. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht der Detektionsort (14) als schmales langgestrecktes,

gerades oder gekrümmtes Detektionsfeld (14a-14m) ausgebildet ist.

18. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß bei der mindestens einen orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht der Einstrahlungsort (12) als schmales, langgestrecktes, gerades oder gekrümmtes Einstrahlungsfeld (12a-12f) ausgebildet ist.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 18, **dadurch gekennzeichnet**, daß mehrere orts aufgelöste Messungen von vielfach gestreutem Licht bei gleicher Wellenlänge des Primärlichtes durchgeführt werden.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 19, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Einstrahlungsort (12) und der Detektionsort (14) bei einer ersten und einer zweiten orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht unterschiedliche Meßabstände (D1,D2) voneinander haben.
21. Verfahren nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Unterschied der Meßabstände so groß ist, daß die Intensitäten des Sekundärlichts bei der ersten und zweiten orts aufgelösten Messung von vielfach gestreutem Licht in einer Relation von mindestens 3:1, bevorzugt mindestens 5:1, besonders bevorzugt mindestens 10:1 stehen.
22. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 21, **dadurch gekennzeichnet**, daß in einem Detektionsbereich eine Vielzahl von unterschiedlichen Teilflächen als Detektionsorte (14) eingestellt werden, um die Intensität des an einer Vielzahl von Detektionsorten (14) aus-

tretenden Sekundärlichts (17) als Funktion des Abstandes von einem Einstrahlungsort (12) zu messen und dadurch eine Vielzahl von orts aufgelösten Messungen von vielfach gestreutem Licht durchzuführen.

23. Verfahren nach Anspruch 22, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Dichte der in dem Detektionsbereich eingestellten unterschiedlichen Detektionsorte in mindestens einer Dimension mindestens zwei Detektionsorte, bevorzugt mindestens vier Detektionsorte pro Zentimeter beträgt.
24. Verfahren nach Anspruch 22 oder 23, **dadurch gekennzeichnet**, daß die in dem Detektionsbereich (22) aus der biologischen Matrix (10) austretende Lichtintensität von einer zweidimensionalen Anordnung (26) lichtempfindlicher Elemente (25) orts aufgelöst erfaßt wird.
25. Verfahren nach Anspruch 24, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Detektionsbereich eine Markierung zur Kennzeichnung einer definierten Meßposition aufweist und die Markierung mittels der zweidimensionalen Anordnung (26) lichtempfindlicher Elemente (25,80) erkannt wird, um bei wiederholten Messungen die gleiche Meßposition wiederzufinden.
26. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 25, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens zwei orts aufgelöste Messungen von vielfach gestreutem Licht mit gleichem Meßabstand (D) zwischen Einstrahlungsort (12) und Detektionsort (14) durchgeführt werden, bei denen sich mindestens entweder die Einstrahlungsorte (12) oder die Detektionsorte (14) unterscheiden.

27. Verfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet**, daß sich bei den Detektionsmessungen mit gleichem Meßabstand (D) zwischen Einstrahlungsort (12) und Detektionsort (14) sowohl der Einstrahlungsort (12) als auch der Detektionsort (14) unterscheiden.
28. Verfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Primärlicht an mindestens drei unterschiedlichen Einstrahlungsorten (12) eingestrahlt und das Sekundärlicht an mindestens drei unterschiedlichen Detektionsorten (14) detektiert wird und die Einstrahlungsorte und die Detektionsorte dabei derartig kombiniert werden, daß für mindestens zwei Meßabstände zwischen Einstrahlungsort und Detektionsort jeweils mindestens drei orts aufgelöste Messungen von vielfach gestreutem Licht durchgeführt werden, bei denen sich mindestens der Einstrahlungsort oder der Detektionsort unterscheiden.
29. Verfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet**, daß die mindestens drei Einstrahlungsorte (12) auf einer Geraden liegen und mindestens sechs Detektionsorte (14) paarweise spiegelsymmetrisch zu der Geraden angeordnet sind.
30. Verfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet**, daß die auf der Geraden angeordneten Einstrahlungsorte (12) gleiche Abstände zueinander haben und die Detektionsorte (14) auf einem Kreis um den mittleren Einstrahlungsort angeordnet sind.
31. Verfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet**, daß die mindestens drei Detektionsorte (14) auf einer Geraden liegen und mindestens sechs Einstrahlungsorte

- (12) paarweise spiegelsymmetrisch zu der Geraden angeordnet sind.
32. Verfahren nach Anspruch 31, **dadurch gekennzeichnet**, daß die auf der Geraden angeordneten Detektionsorte (14) gleiche Abstände zueinander haben und die Einstrahlungsorte (12) auf einem Kreis um den mittleren Detektionsort (14) angeordnet sind.
33. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Temperatur an dem Detektionsort (14) gemessen und in dem Auswertalgorithmus berücksichtigt wird.
34. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Temperatur an dem Detektionsort (14) konstant gehalten wird.
35. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die biologische Matrix (10) eine biologische Flüssigkeit, insbesondere Blut, ist.
36. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die biologische Matrix (10) ein biologisches Gewebe ist.
37. Verfahren nach Anspruch 36, **dadurch gekennzeichnet**, daß das biologische Gewebe Hautgewebe, insbesondere an der Fingerbeere, dem Rumpf, dem Nagelbett, der Lippe, der Zunge oder dem inneren Oberarm des Menschen oder Gewebe der Skleren ist.
38. Vorrichtung zur Bestimmung der Konzentration von Glucose in einer biologischen Matrix, insbesondere zur

Durchführung des Verfahrens nach einem der vorhergehenden Ansprüche, mit

einem zum Anlegen an eine Grenzfläche der biologischen Matrix vorgesehenen Lichttransmissionsbereich (34),

Einstrahlungsmitteln (27) zum Einstrahlen von Licht in die biologische Matrix (10) durch eine diese begrenzende Grenzfläche (11a,11b),

Detektionsmitteln (28) zum Messen der Intensität von aus der biologischen Matrix (10) durch eine diese begrenzende Grenzfläche (11a,11b) austretendem Licht und

Auswertemitteln zum Umwandeln der gemessenen Intensität in ein der Glucosekonzentration entsprechendes Signal,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Einstrahlungsmittel (27) zum gezielten Beleuchten eines definierten Einstrahlungsortes (12) ausgebildet sind und die Detektionsmittel (28) zum gezielten Messen des an einem definierten Detektionsort (14) austretenden Sekundärlichts ausgebildet sind, wobei der Detektionsort (14) relativ zu dem Einstrahlungsort (12) so angeordnet ist, daß an Streuzentren (19) der biologischen Matrix (10) vielfach gestreutes Licht detektiert wird, dessen Intensität für die Konzentration der Glucose charakteristisch ist.

39. Vorrichtung nach Anspruch 38, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens zwei Lichteinstrahlungsmittel (27) mit im wesentlichen gleicher Wellenlänge vorgesehen sind, die zum gezielten Beleuchten unterschiedlicher, räumlich nicht überlappender Einstrahlungsorte ausgebildet sind.

40. Vorrichtung nach Anspruch 38 oder 39, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens zwei Detektionsmittel (28) vorgesehen sind, die zum gezielten Messen des an zwei unterschiedlichen, räumlich nicht überlappenden Detektionsorten aus der biologischen Matrix austretenden Sekundärlichts ausgebildet sind.
41. Vorrichtung nach Anspruch 40, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens drei Lichteinstrahlungsmittel (27) und mindestens drei Detektionsmittel (28) derartig angeordnet sind, daß für mindestens zwei unterschiedliche Meßabstände zwischen Einstrahlungsort (12) und Detektionsort (14) jeweils mindestens drei unterschiedliche Paarungen von Einstrahlungsmittel (27) und Detektionsmittel (28) einstellbar sind.
42. Vorrichtung nach Anspruch 40, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens drei Lichteinstrahlungsmittel (27) und mindestens sechs Detektionsmittel (28) derartig angeordnet sind, daß für mindestens drei unterschiedliche Meßabstände zwischen Einstrahlungsort (12) und Detektionsort (14) jeweils mindestens zwei unterschiedliche Paarungen von Einstrahlungsmittel (27) und Detektionsmittel (28) einstellbar sind.
43. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 42, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Detektionsmittel eine zweidimensionale Anordnung (26) lichtempfindlicher Elemente (25,80) einschließen.
44. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 43, **dadurch gekennzeichnet**, daß Lichtabschirmmittel (62) vorgesehen sind, die die Übertragung von Primärlicht von den Lichteinstrahlungsmitteln zu den Detektions-

mitteln auf einem anderen Wege als durch die biologische Matrix verhindern.

45. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 44, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Detektionsmittel (28) unmittelbar in dem Lichttransmissionsbereich (34) an dem jeweiligen Detektionsort (14) angeordnete Halbleiter-Lichtempfänger (80) einschließen.
46. Vorrichtung nach Anspruch 45, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine Vielzahl von Lichtempfängern (80) in dem Lichttransmissionsbereich (34) in einem Bauteil (83) integriert sind.
47. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 46, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Einstrahlungsmittel (27) unmittelbar in dem Lichttransmissionsbereich (34) an dem jeweiligen Einstrahlungsort (12) angeordnete Halbleiter-Lichtsender (81) einschließen.
48. Vorrichtung nach den Ansprüchen 46 und 47, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Halbleiter-Lichtsender (81) in dem gleichen Bauteil (83) wie die Lichtempfänger (82) integriert sind.
49. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 44, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Einstrahlungsmittel (27) Lichtleitfasern (29) einschließen.
50. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 38 bis 44, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Detektionsmittel (28) Lichtleitfasern (29) einschließen.

1 / 11

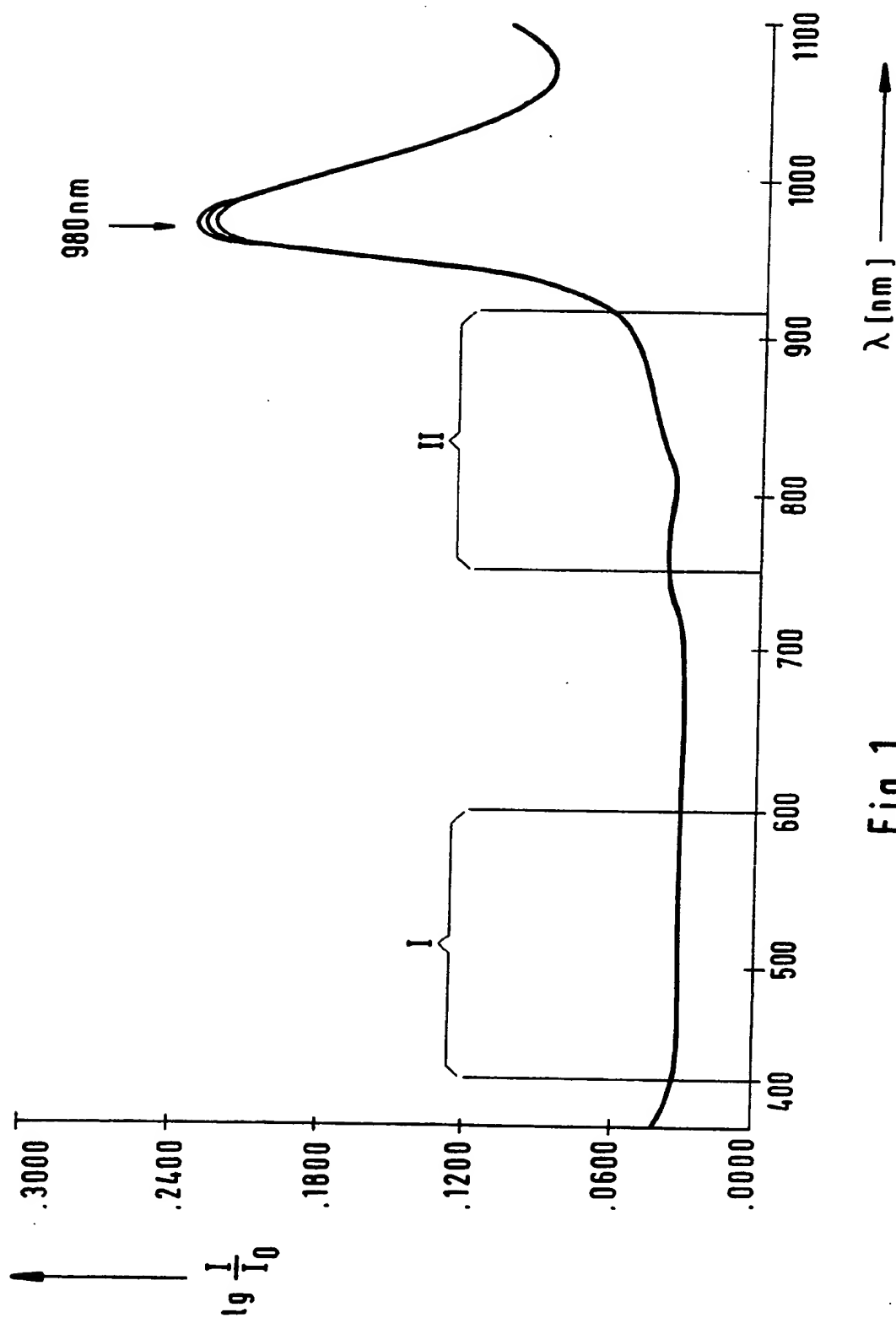


Fig. 1

2 / 11

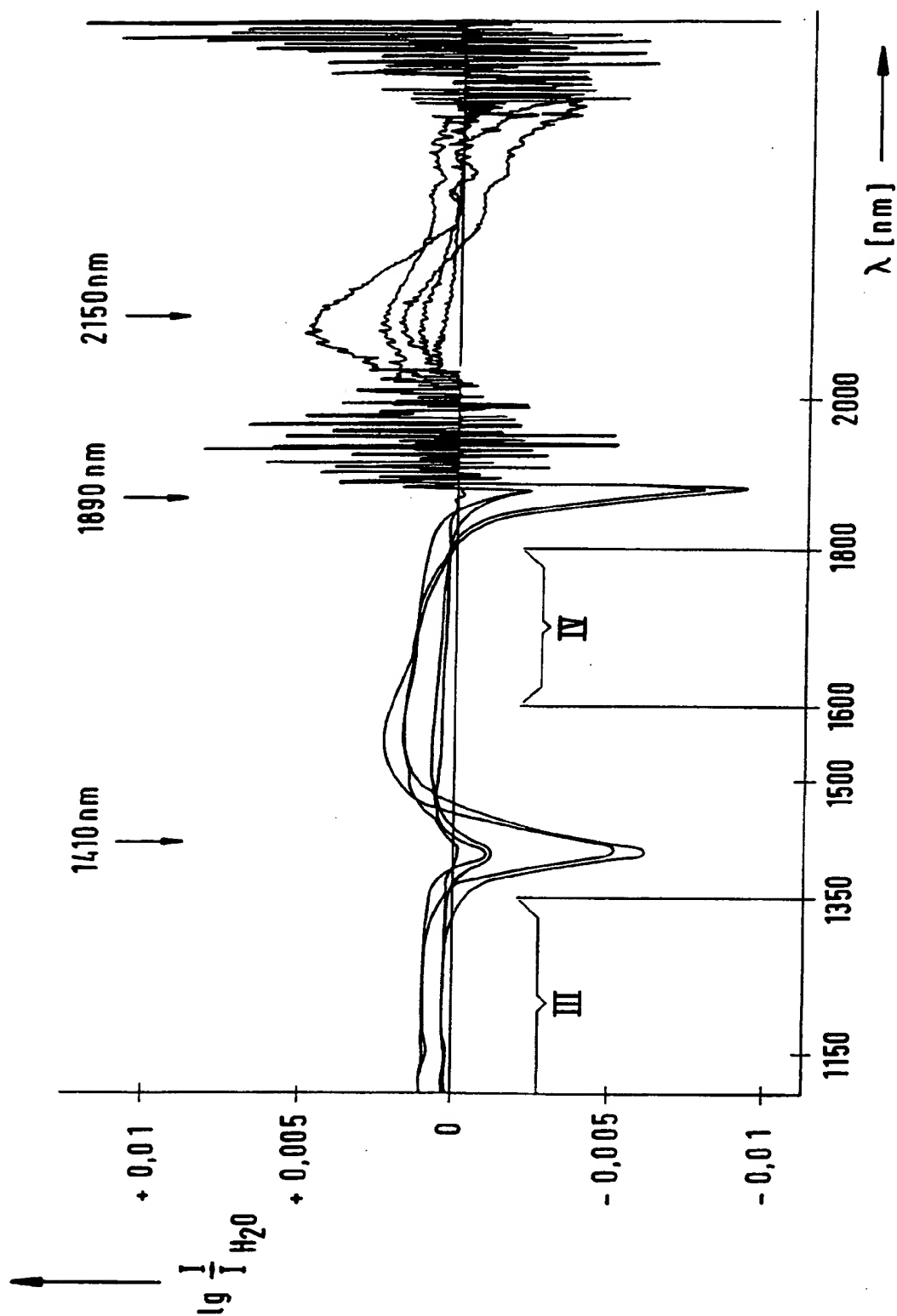


Fig. 2

3 / 11

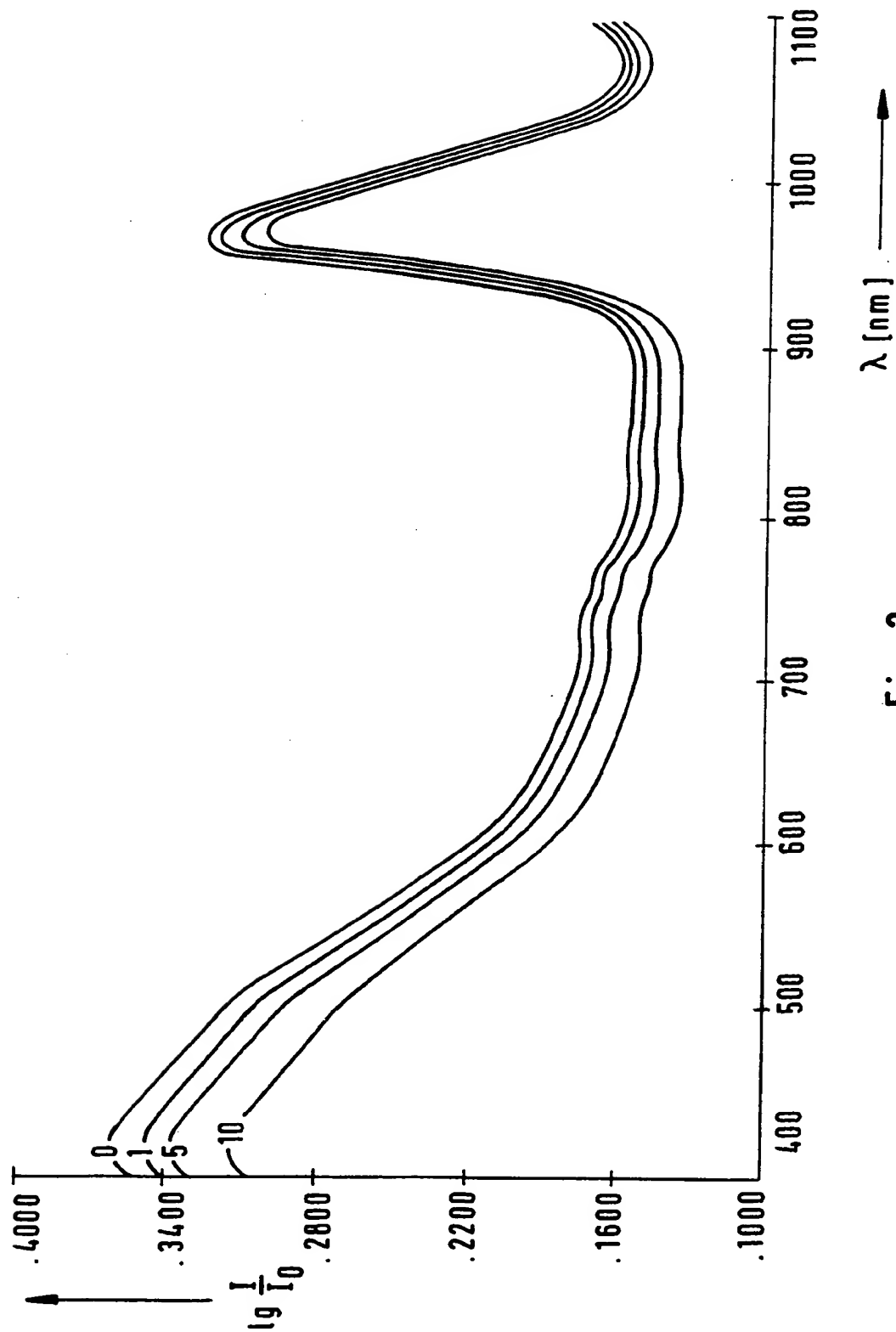


Fig. 3

4 / 11

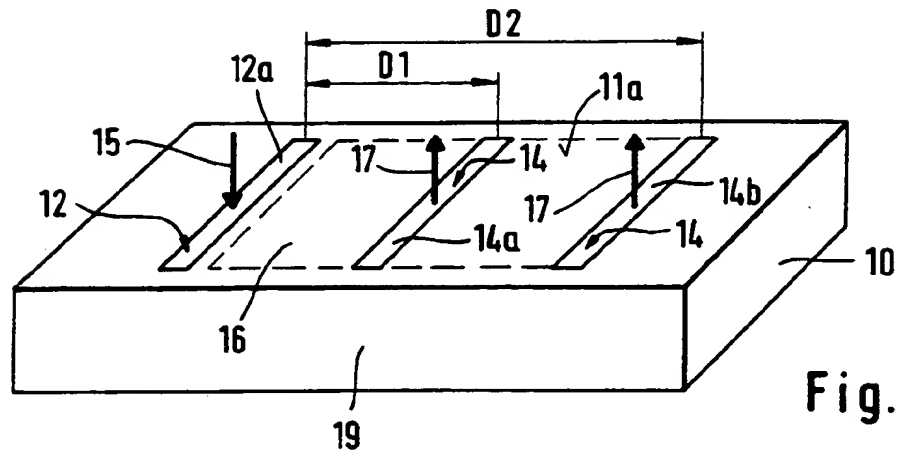


Fig. 4

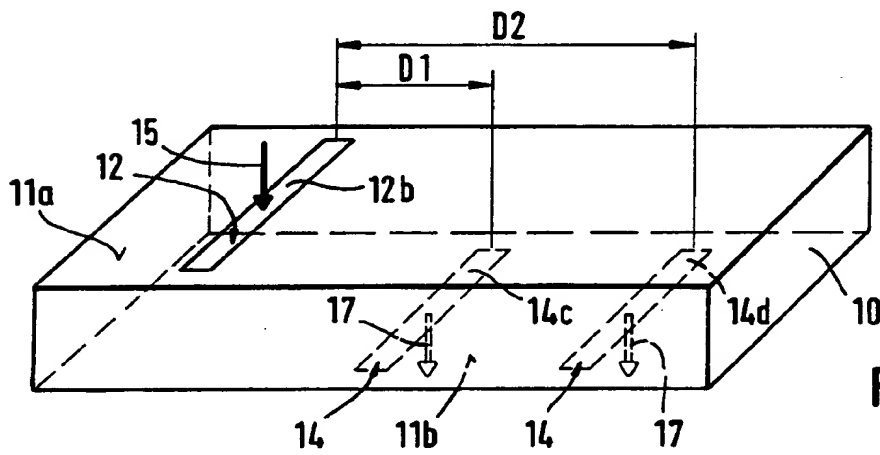


Fig. 5

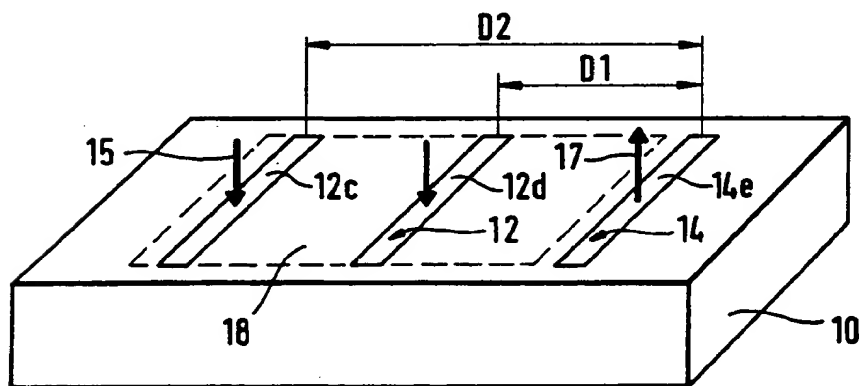


Fig. 6

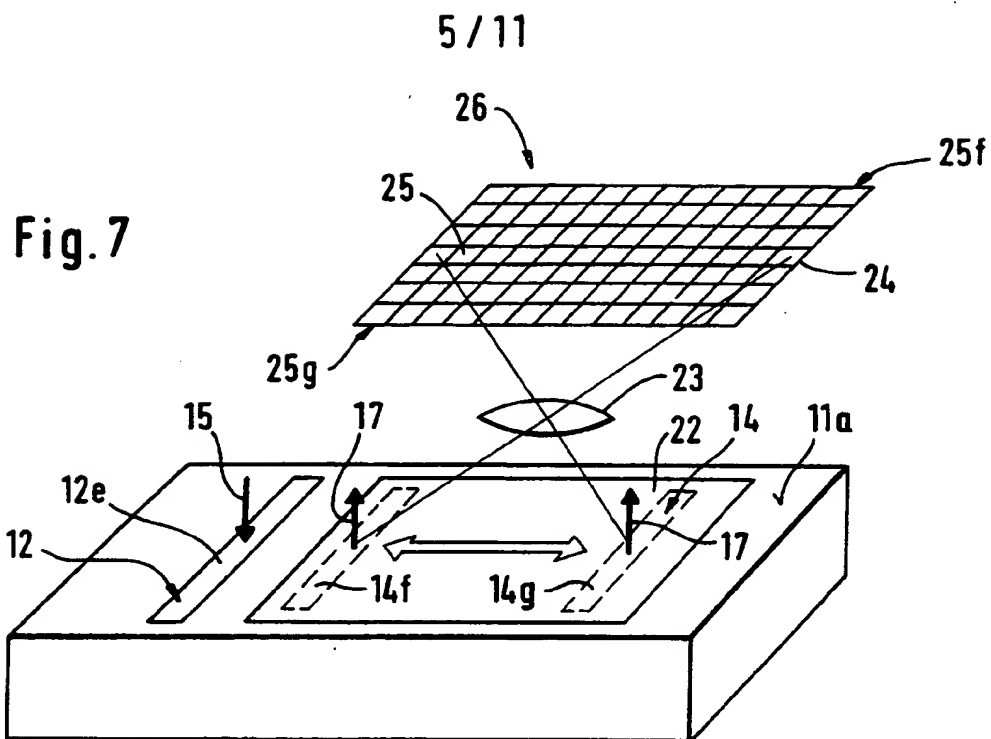
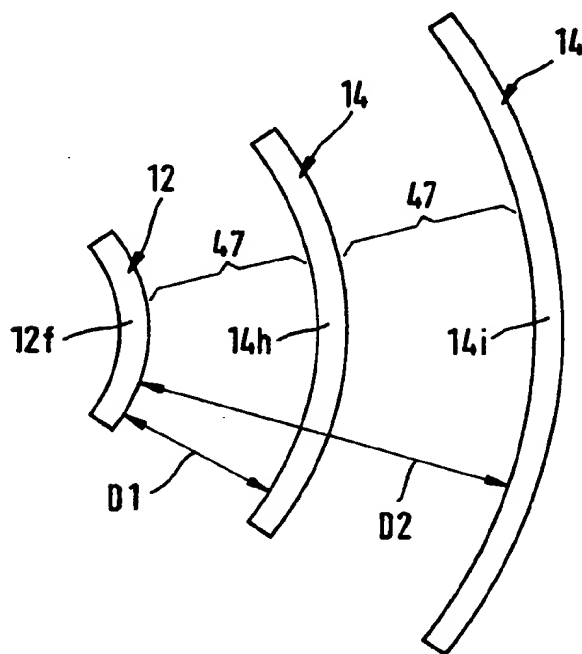


Fig. 8



6 / 11

Fig. 9

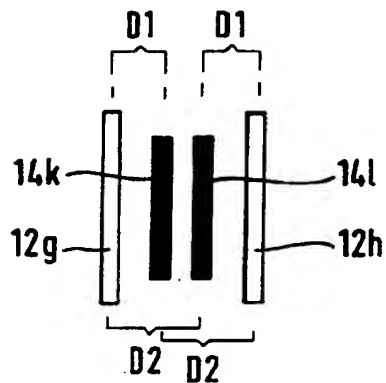


Fig. 10

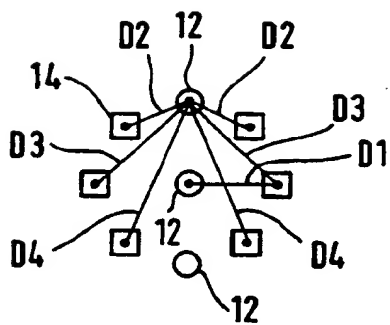
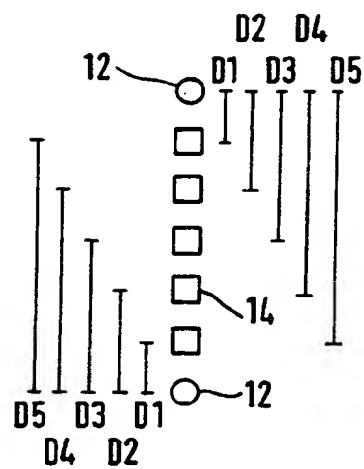


Fig. 11

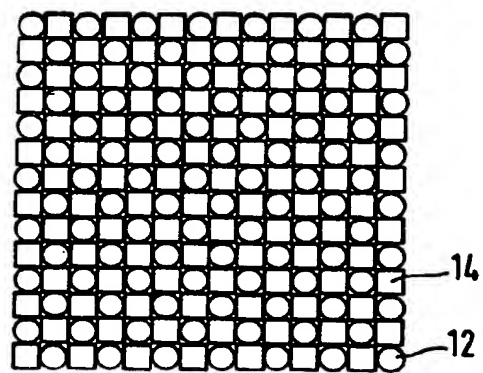


Fig. 12

7/11

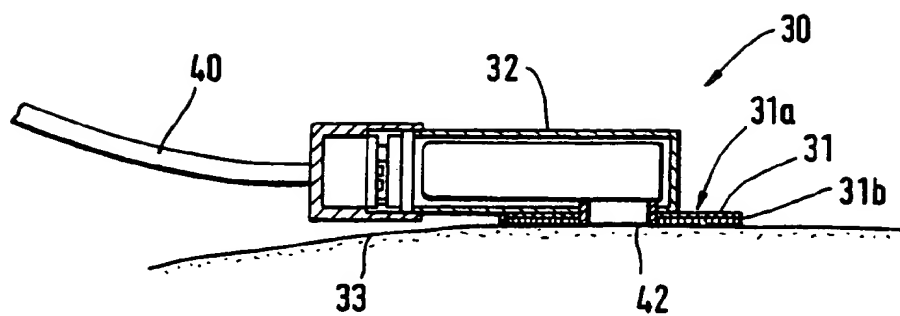


Fig. 13

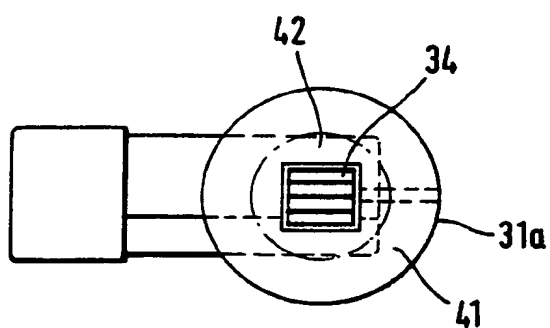
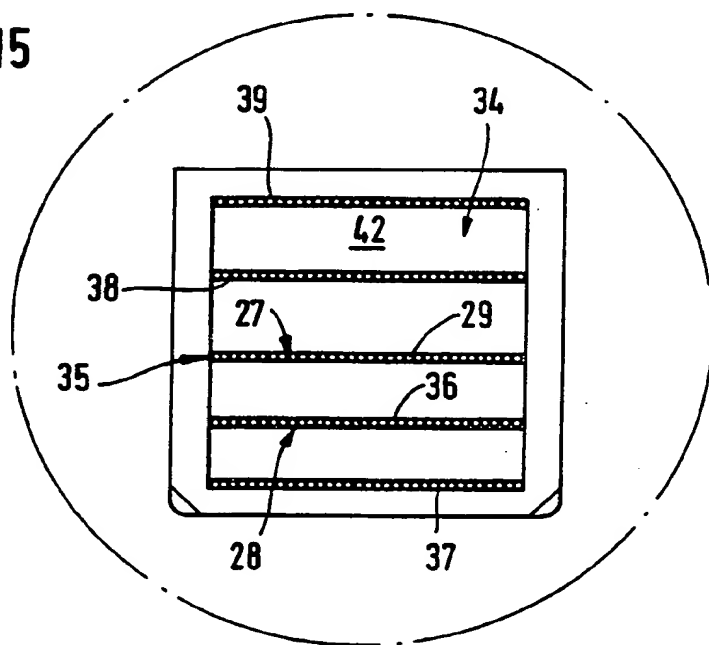
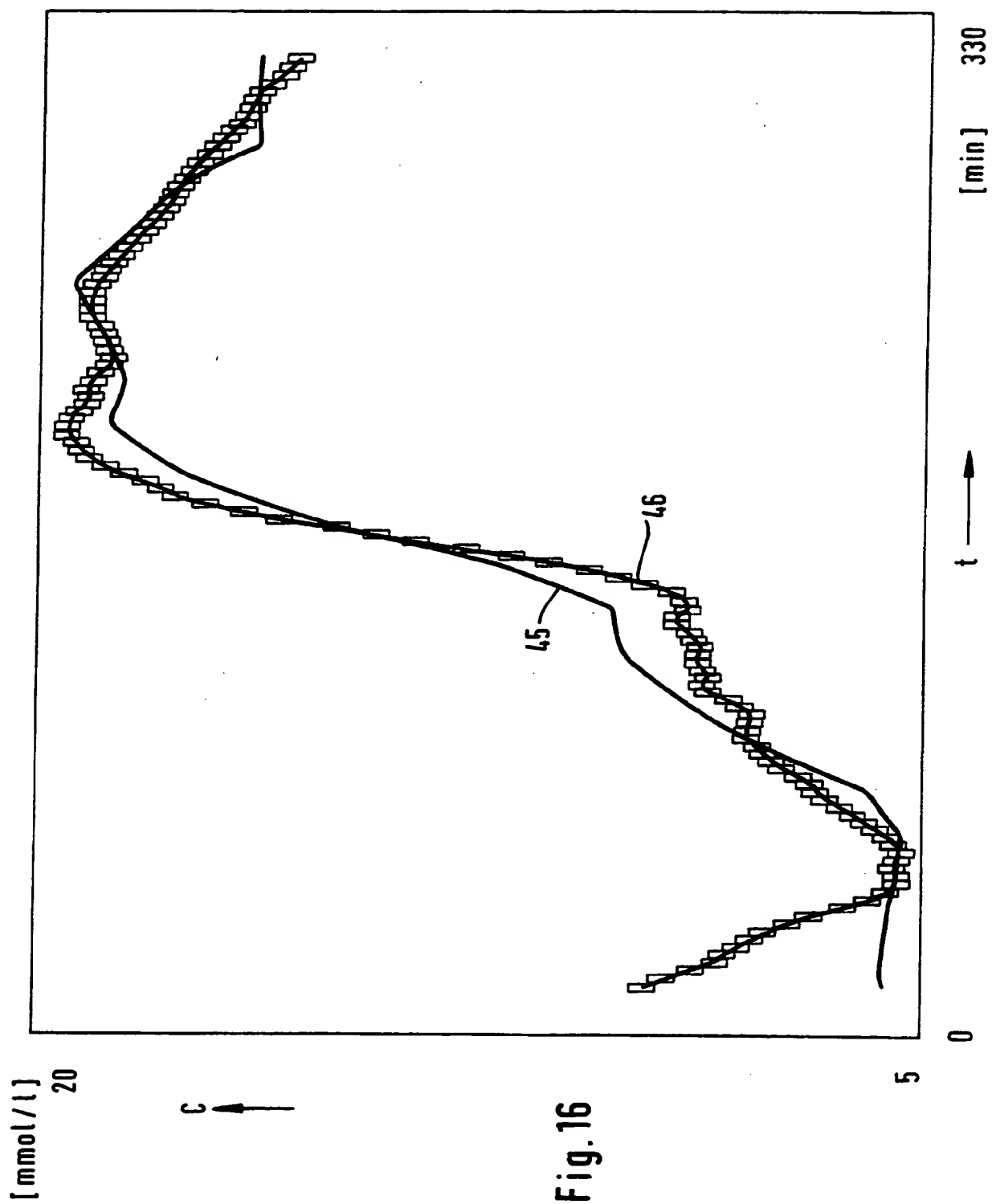


Fig. 14

Fig. 15



8 / 11



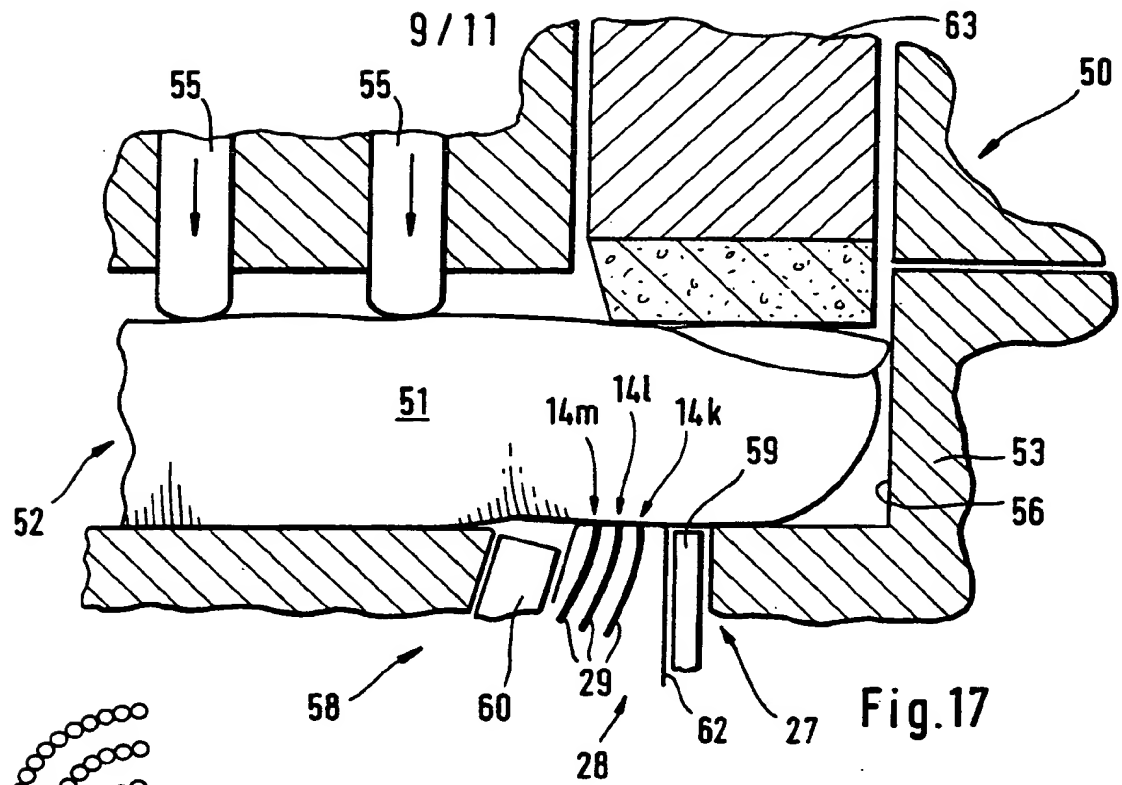


Fig.17

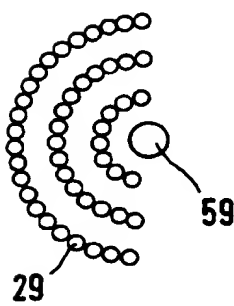


Fig.19

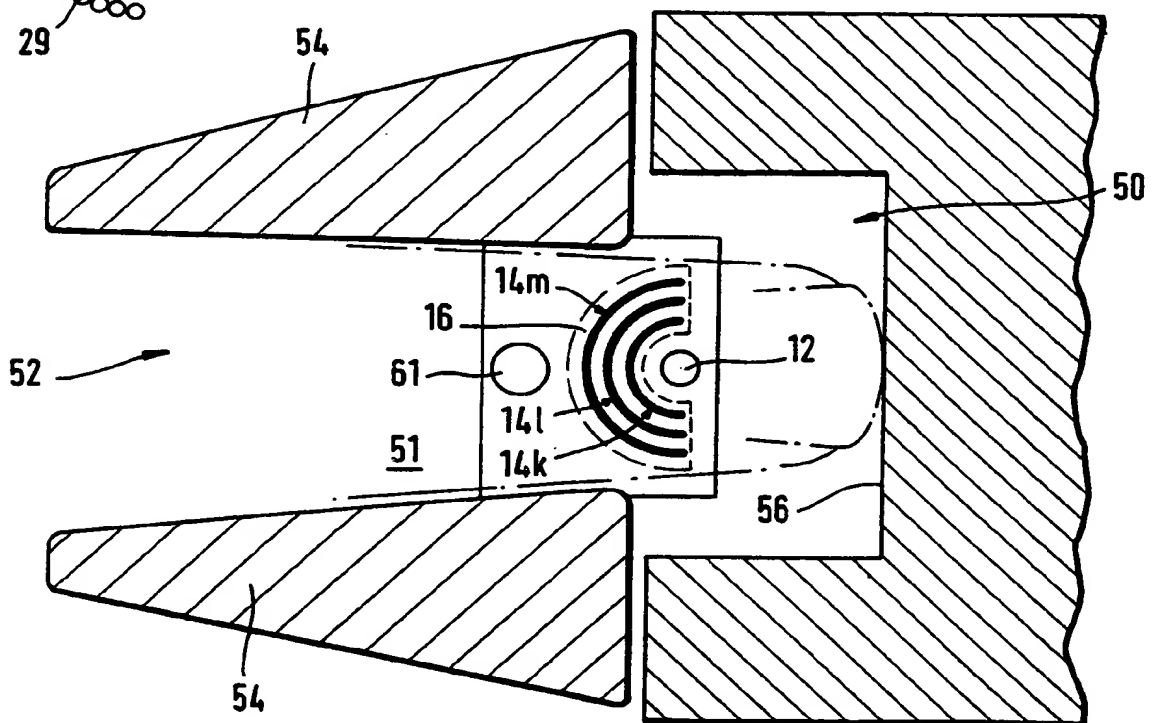
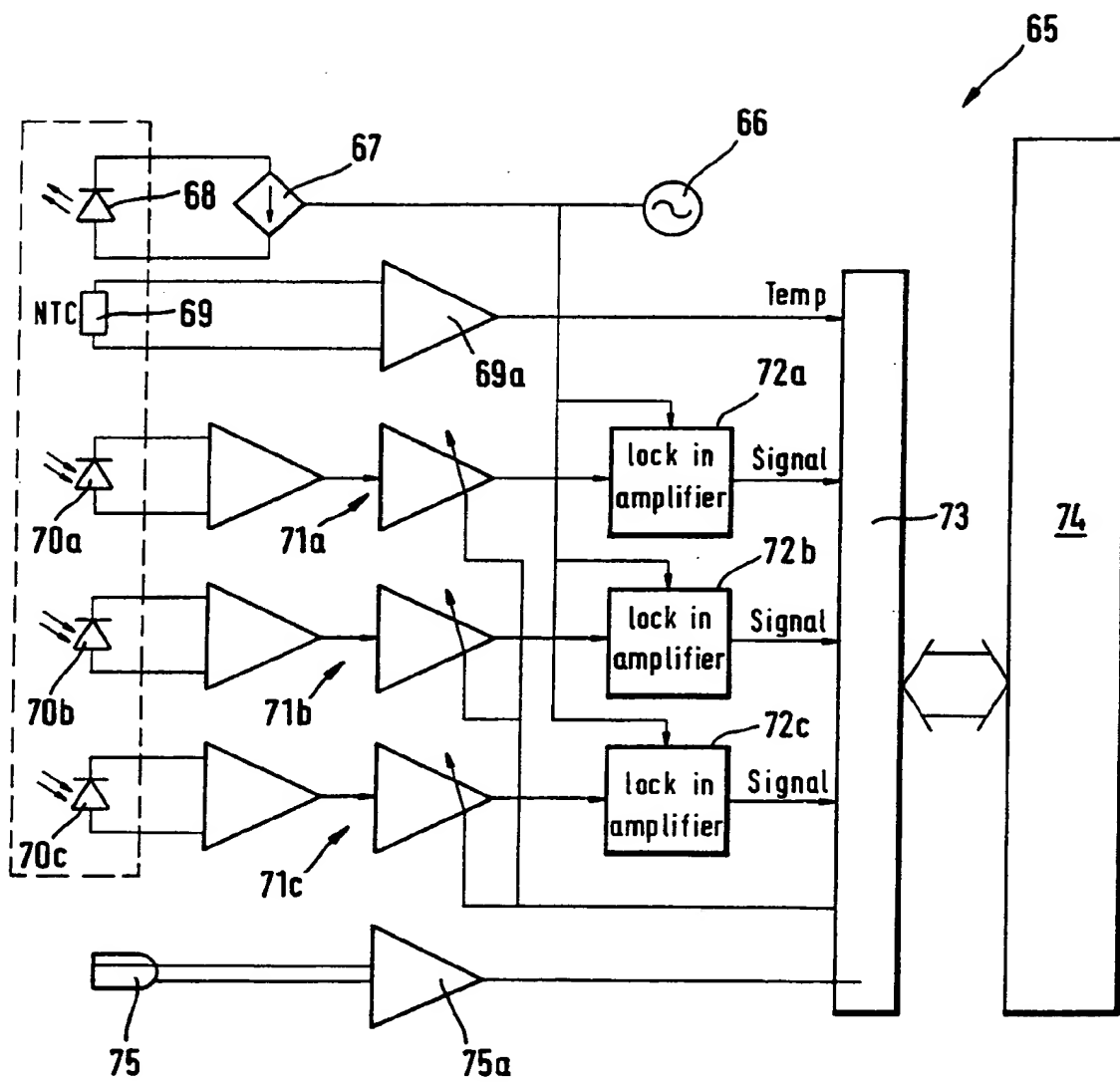


Fig.18

10/11

Fig. 20



11/11

Fig. 21

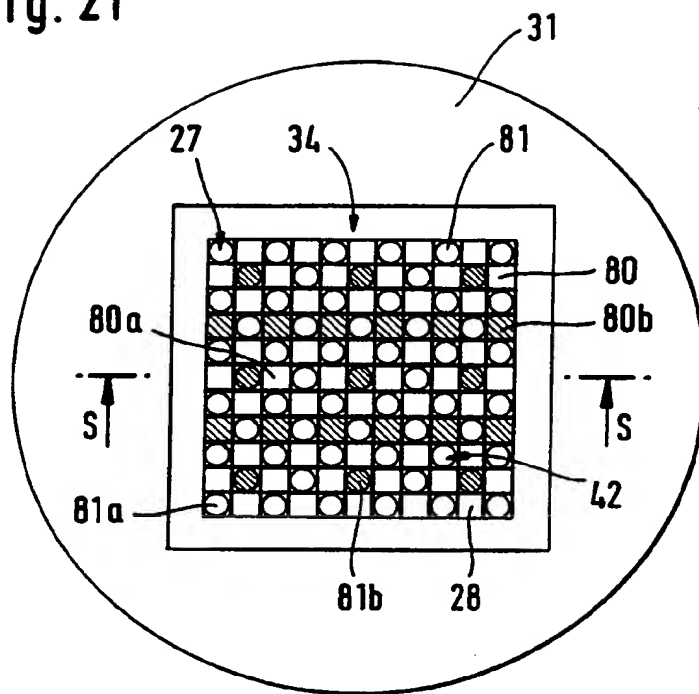
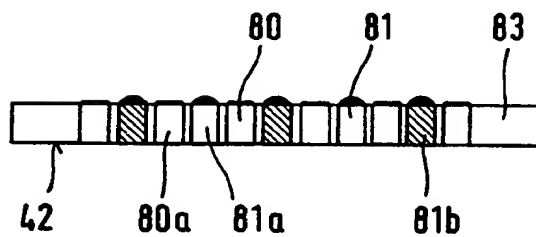


Fig. 22



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. .onal Application No

PCT/DE 93/01058

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 A61B5/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHEDMinimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 A61B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US,A,5 057 695 (K. HIRAO ET AL.) 15 October 1991 cited in the application see column 2, line 31 - column 3, line 38 see column 5, line 39 - line 57; figures ---	1,3,7,8, 15,16, 19,20, 35-40
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 15, no. 421 (C-0878) 25 October 1991 & JP,A,03 173 535 (MATSUSHITA ELECTRIC IND. CO LTD) 26 July 1991 see abstract --- -/--	1,3,7,8, 15,16, 19,20, 35-40

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 March 1994

Date of mailing of the international search report

15. 04. 94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Fontenay, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. .onal Application No

PCT/DE 93/01058

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,Y	WO,A,93 11701 (VIVASCAN CORPORATION) 24 June 1993 cited in the application	2
P,A	see page 4, line 2 - page 5, line 6 see page 5, line 22 - page 7, line 18; figures ---	1,3,8, 10,16, 35-38,40
P,Y	EP,A,0 527 703 (HATSCHEK R.) 17 February 1993	2
P,A	see column 6, line 31 - column 8, line 10 see column 9, line 50 - column 13, line 4 see column 27, line 12 - column 28, line 13; figures ---	5-7,9, 16-22, 31, 33-37, 40,45-50
A	US,A,5 086 229 (R. D. ROSENTHAL ET AL.) 4 March 1992 cited in the application see abstract see column 6, line 23 - line 29 see column 7, line 31 - line 34 see column 11, line 46 - line 68 ---	1,2,15, 33-38, 44,49,50
A	US,A,4 295 470 (R. F. SHAW ET AL.) 20 October 1981 cited in the application see the whole document -----	6,26,27, 30,33,35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/DE 93/01058

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-5057695	15-10-91	JP-A- 2163634 EP-A- 0374844	22-06-90 27-06-90
WO-A-9311701	24-06-93	US-A- 5277181 AU-B- 2244592	11-01-94 19-07-93
EP-A-0527703	17-02-93	JP-A- 5192316	03-08-93
US-A-5086229	04-02-92	US-A- 5028787 AU-A- 8238791 CA-A- 2086019 EP-A- 0536304 JP-T- 5508336 WO-A- 9200513 US-A- 5077476 US-A- 5204532 US-A- 5218207 US-A- 5237178 AU-A- 5042190 EP-A- 0456716 JP-A- 2191434 WO-A- 9007905 US-A- 5068536	02-07-91 23-01-92 28-12-91 14-04-93 25-11-93 09-01-92 31-12-91 20-04-93 08-06-93 17-08-93 13-08-90 21-11-91 27-07-90 26-07-90 26-11-91
US-A-4295470	20-10-81	US-A- 4416285 CA-A- 1089252 CH-A- 620108 DE-A,B,C 2741913 FR-A,B 2371203 GB-A- 1595206 JP-A- 53053191 NL-A- 7709209	22-11-83 11-11-80 14-11-80 20-04-78 16-06-78 12-08-81 15-05-78 20-04-78

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 5 A61B5/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 5 A61B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US,A,5 057 695 (K. HIRAO ET AL.) 15. Oktober 1991 in der Anmeldung erwähnt siehe Spalte 2, Zeile 31 - Spalte 3, Zeile 38 siehe Spalte 5, Zeile 39 - Zeile 57; Abbildungen	1,3,7,8, 15,16, 19,20, 35-40
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 15, no. 421 (C-0878) 25. Oktober 1991 & JP,A,03 173 535 (MATSUSHITA ELECTRIC IND. CO LTD) 26. Juli 1991 siehe Zusammenfassung	1,3,7,8, 15,16, 19,20, 35-40



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. März 1994

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

15. 04. 94

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Fontenay, P

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,Y	WO,A,93 11701 (VIVASCAN CORPORATION) 24. Juni 1993	2
P,A	in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 4, Zeile 2 - Seite 5, Zeile 6	1,3,8, 10,16, 35-38,40
	siehe Seite 5, Zeile 22 - Seite 7, Zeile 18; Abbildungen ---	
P,Y	EP,A,0 527 703 (HATSCHEK R.) 17. Februar 1993	2
P,A	siehe Spalte 6, Zeile 31 - Spalte 8, Zeile 10	5-7,9, 16-22, 31, 33-37, 40,45-50
	siehe Spalte 9, Zeile 50 - Spalte 13, Zeile 4 siehe Spalte 27, Zeile 12 - Spalte 28, Zeile 13; Abbildungen ---	
A	US,A,5 086 229 (R. D. ROSENTHAL ET AL.) 4. März 1992	1,2,15, 33-38, 44,49,50
	in der Anmeldung erwähnt siehe Zusammenfassung siehe Spalte 6, Zeile 23 - Zeile 29 siehe Spalte 7, Zeile 31 - Zeile 34 siehe Spalte 11, Zeile 46 - Zeile 68 ---	
A	US,A,4 295 470 (R. F. SHAW ET AL.) 20. Oktober 1981	6,26,27, 30,33,35
	in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 93/01058

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-5057695	15-10-91	JP-A- 2163634 EP-A- 0374844	22-06-90 27-06-90
WO-A-9311701	24-06-93	US-A- 5277181 AU-B- 2244592	11-01-94 19-07-93
EP-A-0527703	17-02-93	JP-A- 5192316	03-08-93
US-A-5086229	04-02-92	US-A- 5028787 AU-A- 8238791 CA-A- 2086019 EP-A- 0536304 JP-T- 5508336 WO-A- 9200513 US-A- 5077476 US-A- 5204532 US-A- 5218207 US-A- 5237178 AU-A- 5042190 EP-A- 0456716 JP-A- 2191434 WO-A- 9007905 US-A- 5068536	02-07-91 23-01-92 28-12-91 14-04-93 25-11-93 09-01-92 31-12-91 20-04-93 08-06-93 17-08-93 13-08-90 21-11-91 27-07-90 26-07-90 26-11-91
US-A-4295470	20-10-81	US-A- 4416285 CA-A- 1089252 CH-A- 620108 DE-A, B, C 2741913 FR-A, B 2371203 GB-A- 1595206 JP-A- 53053191 NL-A- 7709209	22-11-83 11-11-80 14-11-80 20-04-78 16-06-78 12-08-81 15-05-78 20-04-78

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.